



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

TROMBOCITOPÉNIA IMUNO-MEDIADA
NA CLÍNICA DE ANIMAIS DE COMPANHIA

Cátia Isabel da Cruz Pires Martins Simões

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Luís Manuel Morgado Tavares

Doutor José Henriques Duarte Correia

Doutor José Augusto Farraia e Silva

Meireles

Doutora Ângela Paula Neves Rocha Martins

ORIENTADORA

Doutora Ângela Paula Neves Rocha Martins

CO-ORIENTADOR

Doutor José Augusto Farraia e Silva

Meireles

2008
LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

TROMBOCITOPÉNIA IMUNO-MEDIADA
NA CLÍNICA DE ANIMAIS DE COMPANHIA

Cátia Isabel da Cruz Pires Martins Simões

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Luís Manuel Morgado Tavares

Doutor José Henriques Duarte Correia

Doutor José Augusto Farraia e Silva

Meireles

Doutora Ângela Paula Neves Rocha Martins

ORIENTADORA

Doutora Ângela Paula Neves Rocha Martins

CO-ORIENTADOR

Doutor José Augusto Farraia e Silva

Meireles

2008

LISBOA

AGRADECIMENTOS

A todos os que trabalham na Clínica Veterinária Vetarrábida pela riqueza de conhecimentos e sentimentos que me transmitiram e sobretudo pela confiança que depositaram em mim. Um agradecimento muito especial à minha Orientadora e Directora Clínica da Vetarrábida, Dr^a. Ângela Martins, por me ter recebido como estagiária, por me dar a liberdade de aprender fazendo, por me dar a liberdade de fazer sugestões quanto aos procedimentos padrão instituídos na clínica, por me apoiar na conclusão das disciplinas do currículo, por me oferecer a oportunidade de frequentar congressos e fóruns, por ser exigente com todos os seus funcionários colocando sempre em primeiro lugar a vida e o bem-estar dos animais que são recebidos na clínica e por desejar a minha colaboração de agora em diante.

Ao Dr. João Ribeiro, médico veterinário neurologista em Queluz, pela colaboração prestada em animais que encaminhámos para a sua clínica, quando os nossos meios diagnósticos e técnicos não permitiam prestar-lhes os melhores serviços. Agradeço ainda a amabilidade de me permitir assistir às suas consultas e cirurgias e a disponibilidade para continuar a acompanhar a evolução dos animais acerca dos quais pedimos o seu parecer.

Ao Professor Doutor José Meireles pelo apoio na elaboração, estruturação e aperfeiçoamento científico desta dissertação.

À Professora Doutora Teresa Vila de Brito pela amabilidade e disponibilidade de tomar conhecimento do conteúdo desta dissertação, o que me levou a ser mais crítica e mais rigorosa nos detalhes da conclusão deste documento.

À Dr^a. Ângela Xufre do laboratório DNAtch por todos os esclarecimentos prestados.

À minha família por dispor do seu tempo e compreensão para que eu pudesse cumprir as minhas obrigações como estagiária e aluna, por vezes em detrimento do papel de mãe.

Um último agradecimento a todas as pessoas que colaboraram na recuperação da Clínica Veterinária Vetarrábida após a inundação sofrida a 17 de Fevereiro. Sem elas a interrupção de funcionamento poderia ser muito mais prolongada e o estágio poderia mesmo ter de ser transferido para outro local. Agradeço o apoio prestado pelos colegas Médicos Veterinários que exercem em estabelecimentos próximos da Clínica Veterinária Vetarrábida pois ajudaram a evitar que a Vetarrábida cessasse funções por completo. Agradeço também às empresas fornecedoras de equipamento por disponibilizarem, assim que foi possível, os meios que permitiram à Vetarrábida recomeçar a trabalhar em pleno.

TROMBOCITOPÉNIA IMUNO-MEDIADA EM CLÍNICA DE ANIMAIS DE COMPANHIA

Resumo

Na clínica veterinária onde decorreu o estágio, a trombocitopénia é um sinal laboratorial encontrado com alguma frequência em cães e gatos apresentados para consulta veterinária devido a alguma alteração do estado hígido. A trombocitopénia pode ser secundária a diversos mecanismos, embora nesta dissertação se realcem os fenómenos de diminuição da contagem de plaquetas devidos a destruição imuno-mediada. Esta última caracteriza-se pela redução da contagem de plaquetas por unidade de volume de sangue acompanhada pela redução do volume médio destas células (diminuição do Volume Plaquetário Médio ou MPV).

Entre os 200 animais que realizaram hemograma, 37 (5,2%) apresentaram esta alteração hematológica (32 canídeos e 5 felídeos). Foi possível diagnosticar a causa da trombocitopénia em 31 dos 32 cães, mas apenas em 2 dos 5 gatos. Constatou-se que quase 70% destes animais apresenta trombocitopénia imuno-mediada secundária a infecção. A bibliografia posiciona as infecções como segunda causa mais frequente de trombocitopénia imuno-mediada em cães, mas no contexto geográfico do local de estágio, uma área semi-rural, os agentes infecciosos transmitidos por vectores são endémicos, sobretudo a espécie *Leishmania infantum*. O hemoparasita do género *Babesia* e as bactérias dos géneros *Ehrlichia* e *Rickettsia* também foram implicados em casos clínicos de trombocitopénia imuno-mediada secundária a infecção, surgindo inclusivamente em infecções múltiplas no mesmo animal. Verificou-se ainda a ocorrência de trombocitopénia imuno-mediada secundária a neoplasia, que a bibliografia coloca como terceira principal causa de trombocitopénia imuno-mediada, embora se tenha verificado durante o período de estágio que este mecanismo é o mais prevalente (20%) a seguir às infecções. Em 8% dos casos foi diagnosticada uma trombocitopénia imuno-mediada induzida por fármacos e em apenas 4 % dos casos (1 cadela) existe um diagnóstico provável de trombocitopénia imuno-mediada idiopática. Segundo a bibliografia este último mecanismo é o mais frequente. O facto de ser tão raro na população incluída neste pequeno estudo prende-se com várias razões, entre as quais o reduzido número de animais susceptíveis e a inespecificidade dos sinais clínicos que pode originar.

Palavras-chave: plaquetas, trombocitopénia, trombocitopénia imuno-mediada, TIM.

IMMUNE-MEDIATED THROMBOCYTOPENIA IN SMALL ANIMAL PRACTICE

Abstract

Thrombocytopenia is a laboratory sign found occasionally in dogs and cats presented with some evidence of disease to the veterinary clinic Vetarrábida. Thrombocytopenia may be secondary to a diversity of mechanisms, although this document sets off the decrease in platelet numbers due to immune-mediated destruction. This last mechanism is characterized by a reduction in platelet counts per blood volume unit, associated with a decrease in the mean volume of the platelet cells (Mean Platelet Volume or MPV).

Among the 200 dogs that were submitted to a complete blood count, 37 (5,2%) presented this alteration (32 dogs and 5 cats). The cause of thrombocytopenia was diagnosed in 31 of the 32 dogs, but only in 2 of the 5 cats. Nearly 70% of these animals had a thrombocytopenia secondary to infection. Most authors refer the infections as the second most common cause of immune-mediated thrombocytopenia (next to the primary or idiopathic mechanism), but in this particular geographic environment, a semi-rural area, vector-borne infectious agents represent an endemy, specially *Leishmania infantum*. Haemoparasites as *Babesia* spp. and bacteria as *Ehrlichia* spp. and *Rickettsia* spp. have also been implicated in clinical cases of infection-induced immune-mediated thrombocytopenia, as single or as co-infections affecting the same dog.

In 20% of the dogs the cause of thrombocytopenia was neoplasia-induced immune-mediated destruction, which is considered by the literature as the third major condition inducing immune-mediated thrombocytopenia, next to the infections. In this study it was indeed less frequent than infection-induced destruction, but, in a global evaluation, it is the second major cause of immune-mediated thrombocytopenia. In 8% of the dogs the diagnosis was drug-induced immune-mediated thrombocytopenia and in only 4% of the dogs (1 bitch) there is a strong suspicion of idiopathic immune-mediated thrombocytopenia. According to the literature, this last mechanism is the most prevalent in animals with thrombocytopenia caused by immune-mediated destruction. The reasons why it is so rare in the population evaluated in this small revue are probably the small number of animals susceptible to this affection and the possibility of subclinical disease.

Key-words: platelets, thrombocytopenia, immune-mediated thrombocytopenia, IMT.

ÍNDICE GERAL

Agradecimentos.....	i
Resumo.....	iii
Abstract.....	v
Índice geral.....	vii
Índice de imagens.....	ix
Índice de quadros.....	x
Índice de gráficos.....	x
Índice de abreviaturas e símbolos.....	xi - xiii
I – Introdução.....	1
II – Actividades desenvolvidas durante o estágio profissional.....	2-4
III – Trombocitopenia Imuno-Mediada (TIM).....	5
1 – Introdução aos mecanismos de hemostase.....	5
1.1 – Mecanismos de Coagulação.....	5-6
1.1.1 – Hipótese Clássica da Coagulação.....	6-7
1.1.2 – Hipótese Revista da Coagulação.....	7-12
1.1.3 – Parâmetros Laboratoriais para avaliação da coagulação	12-15
1.2 – Mecanismos anti-coagulantes.....	15
1.2.1 – Actividade dos anti-coagulantes.....	15-17
1.2.2 – Parâmetros laboratoriais para avaliação dos anticoagulantes.....	18-19
2 – Introdução às alterações de coagulação.....	20
2.1 – Etiopatogenia e sinais clínicos das alterações hemostáticas.....	20-22
2.2 – Maneio do animal com uma alteração de coagulação.....	22
3 – Meios para o Diagnóstico de Trombocitopenia e de outras alterações hemostáticas.....	23
3.1 – Meios de Diagnóstico Iniciais.....	23-26
3.2 – Meios de Diagnóstico Adicionais.....	27
4 – Fisiopatogenia de trombocitopenia.....	27
4.1 – Fisiologia da produção de plaquetas.....	27-28
4.2 – Patogenia da Trombocitopenia.....	28-31
4.3 – Etiopatogenia e sinais de TIM primária.....	32
4.4 – Etiopatogenia e sinais de TIM secundária.....	32
4.4.1 – Agentes infecciosos.....	32-38
4.4.2 – Vacinação.....	38
4.4.3 – Fármacos.....	38-40
4.4.4 – Transfusões.....	40-41
4.4.5 – Sequestro esplénico.....	41
4.4.6 – Púrpura Trombocitopenica Trombótica e Síndrome Urémico-Hemolítico.....	41
4.4.7 – Anemia Hemolítica Imuno-Mediada.....	41-43
4.4.8 – Lúpus Eritematoso Sistémico.....	43
4.4.9 – Coagulação Intravascular Disseminada.....	43-44
4.4.10 – Neoplasias.....	44-45
5 – Diagnóstico da causa de TIM.....	46
5.1 – Caracterização do animal.....	46
5.2 – Anamnese.....	46-47
5.3 – Exame físico.....	47-50
5.4 – Hemograma e esfregaço.....	50-54
5.5 – Análises bioquímicas sanguíneas e urianálise.....	54-55

(Continuação de 5 – Diagnóstico da causa de TIM)	
5.6 – Pesquisa de agentes infecciosos.....	55-58
5.7 – Biópsia, citologia e histopatologia.....	58-60
5.8 – Imagiologia.....	60-61
5.9 – Teste de Coombs directo.....	61
5.10 – Provas de Coagulação.....	61-62
5.11 – Outros testes laboratoriais.....	63
5.12 – Diagnóstico terapêutico.....	63
6 – Tratamento e Prognóstico de TIM	64
6.1 – Tratamento e Prognóstico de TIM secundária.....	64-70
6.2 – Tratamento e Prognóstico de TIM primária.....	70-76
IV – Apresentação de casos clínicos de TIM.....	77
1 – Introdução.....	77-78
2 – Casos Clínicos.....	79
2.1 – Caso de TIM primária.....	79
2.1.1 – Anamnese.....	79
2.1.2 – Plano de diagnóstico e Resultados.....	79-80
2.1.3 – Terapêutica e Controlo.....	80
2.1.4 - Discussão	80-82
2.2 – Caso de TIM secundária a infecção.....	82
2.2.1 – Anamnese.....	82
2.2.2. – Plano de diagnóstico (1ª parte).....	82-83
2.2.3 – Discussão (1ª parte).....	83
2.2.4 – Terapêutica (1ª parte).....	83
2.2.5 – Plano de diagnóstico (2ª parte).....	83-84
2.2.6 – Discussão (2ª parte).....	84-85
2.2.7 – Resultados dos meios de diagnóstico (3ª parte).....	85-86
2.2.8 – Discussão (3ª parte).....	86
2.2.9 – Terapêutica (2ª parte).....	86-87
2.3 – Caso de TIM secundária a neoplasia.....	87-89
2.3.1 – Anamnese.....	89
2.3.2 – Plano de diagnóstico e Resultados (1ª parte).....	89-90
2.3.3 – Discussão (1ª parte).....	90-91
2.3.4 – Terapêutica (1ª parte).....	91
2.3.5 – Plano de diagnóstico e Terapêutica (2ª parte).....	91-92
2.3.6 – Discussão (2ª parte).....	92
2.3.7 – Resultado dos meios de diagnóstico e Terapêutica (3ª parte).....	92-93
2.3.8 – Discussão (3ª parte).....	93-95
3 – Conclusões.....	95-97
V – Bibliografia	98-104

ÍNDICE DE IMAGENS

- Figura 1 – Aspecto ecográfico da VB distendida num cão com hérnia diafragmática. (fotografia original)
- Figura 2 – Imagem de mielografia de um cão de raça Caniche com luxação traumática das vértebras cervicais 6 e 7. (fotografia original)
- Figura 3 – Imagem de icterícia num cão de raça Pit Bull com babesiose. (fotografia original)
- Figura 4 – Linfonodo hipertrofiado devido à invasão por metástases dum tumor de mastócitos cutâneo num cão de raça Rottweiler com 10 anos. (f. original)
- Figura 5 – Fotografia de um nódulo compatível com fibrossarcoma vacinal no membro anterior direito de uma gata. (fotografia original)
- Figura 6 – Fotografia de prolapso do globo ocular de um cão, resolvido por enucleação cirúrgica. (fotografia original)
- Figura 7 – Aspecto de um tumor de mastócitos com 5 meses de evolução, na cauda de um cão. (fotografia original)
- Figura 8 – Fotografia de anzol removido por gastrotomia num cão. (tamanho real; fotografia original)
- Figura 9 – Imagem da radiografia abdominal de um canídeo com corpo estranho gástrico (fotografia original)
- Figura 10 – Fotografia dos corpos estranhos referentes à figura 9, removidos por gastrotomia (1,350 kg de pedras e ossos). (fotografia original)
- Figura 11 – Esquema do papel multifacetado da trombina na hemostase, inflamação e reparação dos tecidos. Adaptado de Gentry (2007).
- Figura 12 – Esquema da hipótese revista da coagulação: via do factor tecidular. Adaptado de Gentry (2007).
- Figura 13 – Esquema que realça a importância do factor tecidular. Adaptado de Harnett & Kerl (2007).
- Figura 14 – Esquema da hipótese revista da coagulação: Sistema de Activação por Contacto e mecanismos anticoagulantes. Adaptado de Gentry (2007).

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 – Esquematização das vias de coagulação na hipótese clássica. Adaptado de Couto (2003) e Meyer et al. (1992).

Quadro 2 – Alterações do tempo de coagulação activada. Adaptado de Meyer et al. (1992).

Quadro 3 – Alterações do tempo de hemorragia. Adaptado de Couto (2003).

Quadro 4 – Valores indicativos da magnitude da trombocitopénia manifestada em cães, em situações clínicas acompanhadas por esta alteração hematológica. Adaptado de Brow et al. (2002).

Quadro 5 – Frequência relativa das alterações hematológicas em cães e gatos com CID: 71 animais de Couto (2003) e 252 animais de Dufort & Matros (2005).

Quadro 6 – Frequência relativa das alterações hematológicas em cães e gatos com CID: 71 animais de Couto (2003) e 252 animais de Dufort & Matros (2005).

Quadro 7 – Parâmetros hematológicos e bioquímicos alterados no animal do caso clínico de TIM secundária a infecção.

Quadro 8 – Representação dos resultados do proteinograma do animal do caso clínico de TIM secundária a infecção.

Quadro 9 – Actualização dos parâmetros hematológicos e bioquímicos alterados no animal do caso de TIM secundária a infecção.

Quadro 10 – Parâmetros hematológicos e bioquímicos alterados no animal do caso clínico de TIM secundária a neoplasia.

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Distribuição por etiologia dos casos de trombocitopénia observados em cães, em valores absolutos.

Gráfico 2 – Distribuição por etiologia dos casos de trombocitopénia observados em gatos, em valores absolutos.

Gráfico 3 – Distribuição percentual da etiopatogenia da trombocitopénia em cães observados durante o estágio.

Gráfico 4 – Evolução dos indicadores relativos às plaquetas no animal do caso de TIM primária, ao longo de 16 semanas.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ACT – tempo de coagulação activada

ADN – ácido desoxirribonucleico

ADP – adenosina di-fosfato

A / G – rácio albuminas/globulinas

AHIM – Anemia hemolítica imuno-mediada

ALT – alanina transferase

ANA – anticorpos anti-nucleares

APC – proteína C activada

APTT – tempo de tromboplastina parcial activada

AST – aspartato transferase

AT – anti-trombina

ATP – adenosina tri-fosfato

bid – duas vezes ao dia

BT – tempo de hemorragia

BUN – azoto ureico sanguíneo

cm - centímetros

Ca – cálcio

CC – condição corporal

CID – Coagulação intravascular disseminada

C4b – *complement regulatory protein C4b-binding protein* ou proteína de ligação à proteína reguladora do complemento C4b

dL – decilitro

DEA-1 – anticorpos eritrocitários caninos de tipo 1

D-Q – *Diff-Quick*

EDTA – ácido etileno-diamino-tetra-acético

ELISA – *Enzyme-linked immunosorbant assay*

FAS – fosfatase alcalina sérica

FeLV – vírus da leucemia felina

FIV – vírus da imunodeficiência felina

fL - fentalitros

f I – fibrinogénio

f II - protrombina

f (...) – factor de coagulação (...)

f (...)a – factor de coagulação (...) activado

fvW – factor de von Willebrand

f. original – fotografia original

fig. – figura

g – gramas

GGT – gama glutamil transferase

GO – globo ocular

h – horas

HBPM – heparina de baixo peso molecular

HGB (CHCM) – concentração de hemoglobina corpuscular média nos eritrócitos

hIg – imunoglobulina humana

HMWK – quininogénio de elevado peso molecular (*high molecular weight kininogen*)

H. V. – Hospital Veterinário

IFD – imunofluorescência directa

IFI – imunofluorescência indirecta

Ig – imunoglobulina (IgA, IgE, IgG, IgM)

IL – interleucina

IM – via intra-muscular

IPR – índice de produção de reticulócitos

IV – via intra-vascular

kg – quilograma

LES – Lúpus eritematoso sistémico

m² – metro quadrado

ml – mililitros

mmol - milimoles

MAD – membro anterior direito

MCH (HCM) – hemoglobina corpuscular média nos eritrócitos

MCV (VCM) – volume corpuscular médio dos eritrócitos

MK-CSF – factor estimulador de colónias de megacariócitos

MPV – volume plaquetário médio

MSF – *Mediterranean spotted fever*

μL – microlitro

NO – monóxido de azoto

PAAF – punção aspirativa com agulha fina
 PAI-1 – *tissue plasminogen activator inhibitor-1*
 PBA – platelet bindable antibodies
 PC – proteína C
 PCR – reacção em cadeia da polimerase
 PDF – produtos de degradação do fibrinogénio
 PDW – amplitude de distribuição plaquetária
 PIVKA – produtos da inibição do antagonismo da vitamina K
 pg – picogramas
 PGI₂ – prostaglandina I₂
 PIF – peritonite infecciosa felina
 PK – pré-caliceína
 PL – fosfolípido
 PMFI – factor inibidor de migração de plaquetas
 PO – *per os* ou via oral
 PS – proteína S
 PSAIg – *platelet surface-associated immunoglobulins*
 PT – tempo de protrombina
 PTT – tempo de tromboplastina
 RDW – amplitude de distribuição dos eritrócitos
 RMSF – *Rocky Mountain spotted fever*
 SC – via sub-cutânea
 ScuPA – *single-chain urokinase-type plasminogen activator*
 sid – uma vez ao dia
 TAC – tomografia axial computadorizada
 TAFI – *thrombin-activable fibrinolysis inhibitor* ou inibidor da fibrinólise activado pela trombina
 TAT – complexo trombina-anti-trombina
 TCT – tempo de coagulação da trombina
 tid – três vezes ao dia
 TIM – Trombocitopénia imuno-mediada
 TF – factor tecidular
 TFPI – *tissue factor path inhibitor* ou inibidor da via do factor tecidular
 T-TM – trombina-trombomodulina

TM – trombomodulina

tPA – *tissue plasminogen activator* ou activador do plasminogénio de tipo tecidual

TSA – teste de sensibilidade a antibióticos

TT – tempo de trombina

UI – unidades internacionais

uPA – *uroquinase plasminogen activator* ou activador do plasminogénio de tipo uroquinase

UPC – rácio proteína urinária/creatinina urinária

VPC – complexos ventriculares prematuros

μL – microlitro

> - maior

< - menor

% - percentagem

1^a - primeira

2^a - segunda

¼ - um quarto

½ - meio

¾ - três quartos

I – INTRODUÇÃO

O presente trabalho propõe-se debater as situações patológicas em que ocorre trombocitopénia imuno-mediada e discutir casos clínicos de animais de companhia que manifestam esta alteração. A dissertação vai incidir sobre um sinal laboratorial que pode surgir numa diversidade de apresentações clínicas, e por isso exige a aplicação de diferentes meios de diagnóstico e abordagens terapêuticas. Em vez de limitar a discussão a uma patologia em particular, pretende-se debruçar o estudo sobre um sinal laboratorial (trombocitopénia) por três razões. Em primeiro lugar porque a trombocitopénia, clinicamente evidente ou não, pode pôr a vida do animal em perigo. Em segundo lugar porque o aparecimento da trombocitopénia pode estar associado a situações diferentes e obriga ao apuramento de muita informação por variados exames complementares de diagnóstico e, consoante os resultados, requer diferentes abordagens terapêuticas. Em terceiro lugar porque, num curto período de estágio (cerca de 4 meses), não foi reunida uma casuística numericamente significativa em muitas áreas, com excepção das doenças infecciosas e parasitárias e das neoplasias. Supondo que estes temas seriam os mais frequentemente estudados por grande parte dos colegas recém-licenciados, esta tese de dissertação procura rever a informação relacionada com trombocitopénia em clínica de animais de companhia, em particular quando estão envolvidos mecanismos de destruição imuno-mediada, e dedica-se ainda a debater situações clínicas (acompanhadas durante o estágio) cujo denominador comum é a trombocitopénia.

A trombocitopénia é responsável por situações de hemorragia e pode estar associada a outras alterações de coagulação. Com o objectivo de sustentar a discussão dos três casos clínicos apresentados no ponto IV deste documento, foi necessário rever a fisiologia e patogenia da hemostase. Dada a abrangência do tema “Trombocitopénia”, serão apenas focados os mecanismos em que a diminuição da contagem de plaquetas sanguíneas é causada por destruição imuno-mediada.

No ponto IV é apresentada uma compilação de casos clínicos de trombocitopénia, acompanhados durante o estágio em clínica de animais de companhia. Após uma análise global ao grupo de animais com trombocitopénia (de etiologia variada), o estudo debruça-se apenas sobre os casos de trombocitopénia imuno-mediada. De entre estes últimos, são seleccionados para discussão os casos clínicos de 3 canídeos, com quadros clínicos, planos de diagnóstico e planos terapêuticos representativos de 3 processos de trombocitopénia imuno-mediada distintos.

II – ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO PROFISSIONAL

O estágio decorreu na Clínica Veterinária Vetarrábida, onde, sob a Direcção Clínica da Dr^a. Ângela Martins, trabalham três médicos veterinários: o Dr. Ricardo Palma com interesse na área de Ortopedia, o Dr. Manuel Monzo com interesse por Cardiologia e a Dr^a. Ana Sofia Vale com interesse por Clínica de Novos Animais de Companhia. Foram acompanhadas consultas destas áreas. Além da formação recebida na Vetarrábida, surgiu a possibilidade de acompanhar animais a consultas de Neurologia com o Dr. João Ribeiro da Clínica Ani+ em Queluz, e aí assistir a consultas e cirurgias (*ventral slot* e fixação interna em vértebras cervicais).

O estágio decorreu diariamente entre as 10 e as 20 horas, com 2 horas de intervalo para almoço e 2 dias de descanso por semana. Ocasionalmente o horário prolongava-se devido a um maior número de cirurgias ou devido a uma urgência no final da noite. No total contabilizam-se 812 horas de estágio profissional. De início as ocupações incluíam o acompanhamento de todas as consultas numa postura mais passiva, a participação no trabalho de cuidados de internamento e o acompanhamento de todas as cirurgias, participando na manutenção e monitorização da anestesia e na monitorização pós-cirúrgica. Foi atribuída à estagiária a responsabilidade por um animal (cão jovem com leishmaniose, dermatofitose e demodecicose) que permaneceu internado 2 meses. Com o objectivo de melhorar a abordagem clínica e terapêutica do paciente foi facultada a possibilidade de assistir ao congresso de Dermatologia do H. V. Montenegro.

Após a adaptação ao funcionamento da clínica, o acompanhamento das consultas passou a ser mais activo (exame físico, exploração da história clínica, administração de profiláticos e tratamentos injectáveis, discussão de resultados laboratoriais e diagnósticos diferenciais, mudança de pensos, desinfecção de suturas e lacerações, 27 colheitas de sangue, realização de análises laboratoriais, realização de 65 radiografias, acompanhamento de 38 ecografias (fig. 1),

Figura 1 - Aspecto ecográfico da vesícula biliar distendida num cão com hérnia diafragmática. (f. original)

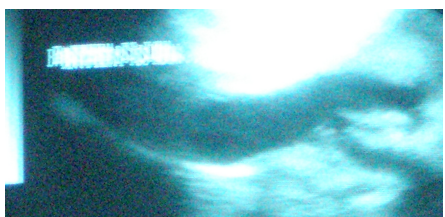
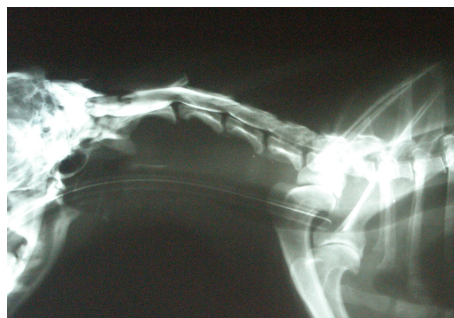


Figura 2 - Imagem de mielografia de um cão de raça Caniche com luxação traumática das vértebras cervicais 6 e 7. (f. original)



de 5 ecocardiografias e de 4 mielografias (fig. 2), realização de necrópsias em cão, gato e quelónios). A intervenção nas cirurgias tornou-se igualmente mais activa (colocação de catéteres venosos, entubação endotraqueal, assistência ao cirurgião, monitorização e manutenção da anestesia). Foram também regularmente realizados outros procedimentos (limpeza auricular, corte de unhas, compressão de glândulas peri-anais, observação de esfregaços e citologias, banhos terapêuticos, fisio e hidroterapia e acompanhamento de consultas ao domicílio).

A Clínica Vetarrábida situa-se em Vila Nogueira de Azeitão, uma zona semi-rural, com uma vasta população de animais de vida livre ou semi-livre numa área endémica de doenças infecciosas e parasitárias. Muitos animais são assistidos há vários anos nesta clínica, portanto há um número significativo de cães e gatos geriátricos com patologia osteo-articular, cardíaca, renal e oncológica. A população de cães é principalmente constituída por animais de maior porte, que vivem permanente ou temporariamente no exterior. Uma fracção menor dos cães acompanhados corresponde a animais de companhia, de menor porte e de vida mais humanizada. Verificou-se a existência de muitas situações de doença transmitida por ixodídeos (fig. 3) e por mosquitos e de doenças virais caninas (parvovirose e traqueobronquite infecciosa). A população de gatos é pouco numerosa em termos relativos, sendo constituída por gatos de vida livre ou semi-livre que raramente são sujeitos a qualquer procedimento médico. A maioria vem à clínica para a esterilização e não regressa. Há um número reduzido de gatos que vive em casa e é submetido a profilaxia, controlo regular de saúde e tratamento de situações patológicas.

Figura 3 – Imagem de icterícia num cão de raça Pit Bull com babesiose (*B. canis*). (f. original)

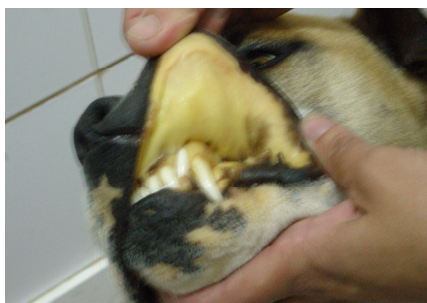
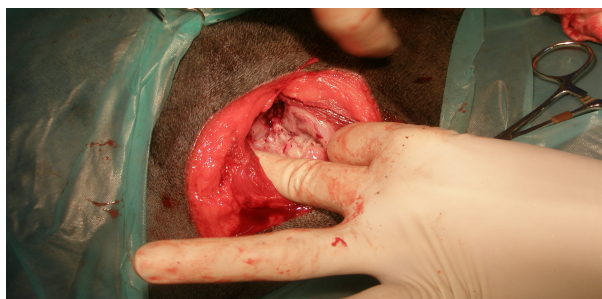


Figura 4 – Linfonodo hipertrofiado devido à invasão por metástases dum tumor de mastócitos cutâneo num cão de raça Rottweiler com 10 anos. (f. original)



Na totalidade foram acompanhadas 519 consultas, cerca de $\frac{3}{4}$ em cães (416) e $\frac{1}{4}$ em gatos (103). Um terço das consultas em cada espécie destinava-se a profilaxia, um quinto das consultas destinava-se a controlo clínico/*follow up* e a maior parte devia-se a um estado patológico.

Foram acompanhadas 71 cirurgias em cães e 43 em gatos. Metade do total de cirurgias correspondia a esterilizações reprodutivas. Nestas situações realço a excisão de testículos intra-abdominais. O restante das intervenções cirúrgicas incluía mastectomias, cesareanas, excisão de pólipos vaginais, amputação de cauda (fig. 7), amputação de falange, amputação de membro anterior (fig. 5), fixação interna e externa de fracturas de ossos longos, excisão de osteossarcoma e higroma, redução de hérnia abdominal, laparotomia exploratória, gastropexia após torção e gastrotomias para remoção de corpos estranhos (fig. 8-10), colonectomia, esplenectomia, cirurgia de reconstituição dérmica e muscular, biópsias de tecidos moles, destartarização/extracção dentária, resolução de prolapso da glândula de Harder, enucleação do globo ocular (fig. 6) e tarsorrafia.

Figura 5 – Fotografia de um nódulo compatível com fibrossarcoma vacinal no MAD de uma gata. (f. original)



Figura 6 – Fotografia de prolapso do GO de um cão, resolvido por enucleação cirúrgica. (f. original)



Figura 7 – Aspecto de um tumor de mastócitos com 5 meses de evolução, na cauda de um cão. (f. original)



Figura 8 – Fotografia de anzol removido por gastrotomia num cão. (tamanho real; f. original)



Figura 9 – Imagem da radiografia abdominal de um canídeo com corpo estranho gástrico. (f. original)



Figura 10 - Fotografia dos corpos estranhos referentes à figura 9, removidos por gastrotomia (1,350 kg de pedras e ossos). (f. original)



III. TROMBOCITOPÉNIA IMUNO-MEDIADA (TIM)

A trombocitopénia imuno-mediada corresponde à destruição das plaquetas por mecanismos de hipersensibilidade de tipo II (citotoxicidade dependente de anticorpos) (Carr, 2005; Day, 1999). Pode ser primária ou idiopática quando os exames complementares de diagnóstico não permitem encontrar nenhum factor desencadeador da destruição das plaquetas ou pode ser secundária a diversos agentes etiológicos, entre os quais infecções, neoplasias e fármacos.

Devido ao papel fulcral das plaquetas no processo de coagulação, a trombocitopénia compromete a hemostase e eventualmente a sobrevivência. Segundo Couto (2003), a TIM primária é a causa mais comum de hemorragia espontânea em cães. Nos gatos a maior parte dos casos de TIM são secundários à infecção por FeLV. Em seguida apresentar-se-á a fisiologia da hemostase para melhor entender a função das plaquetas durante a coagulação, o teor e aplicabilidade dos testes de diagnóstico disponíveis nesta área e as opções terapêuticas em cada situação particular de trombocitopénia.

1 – INTRODUÇÃO AOS MECANISMOS DE HEMOSTASE

Etimologicamente o termo “hemostase” provém do grego *haima* (sangue) e *stasis* (imobilidade) (Fry & McGavin, 2007). Quando há anomalias neste mecanismo, os animais são mais vulneráveis a hemorragias. Estas podem ocorrer espontaneamente ou surgir no decurso de traumatismos que em circunstâncias normais seriam inofensivos.

1.1 – Mecanismos de Coagulação

Qualquer lesão num vaso inicia uma sequência de respostas que visa reparar o dano (Harnett & Kerl, 2007; Gentry, 2007; Carr, 2005; Couto, 2003; Meyer, Coles & Rich, 1992):

- *Formação do Tampão Primário*: O colagénio subendotelial, que a lesão expôs, promove a adesão de plaquetas por intermédio de proteínas adesivas (factor de von Willebrand, fibrinogénio, fibronectina e P-selectina); as plaquetas aderem ao local lesado, agregam-se e são activadas libertando serotonina, histamina e ADP; a serotonina e a histamina produzem a vasoconstrição imediata do vaso lesado, enquanto o ADP induz aderência e agregação de mais plaquetas; a tromboestenina, a proteína contráctil presente nas plaquetas, e o fibrinogénio induzem a retracção do coágulo que completa a formação do Tampão Hemostático Primário.

A adesão inicial (primária) das plaquetas ao endotélio vascular é facilitada por glicoproteínas dos trombócitos (complexo integrina $\alpha_{IIb}\beta_3$, integrina $\alpha_2\beta_1$ e Gq) (Heseltine, 2008; Brooks & Catalfamo, 2005). Em seguida as plaquetas sofrem alterações morfológicas e ligam-se também entre si (agregação). A agregação leva à libertação dos mediadores que facilitam a quimiotaxia de mais plaquetas (adesão secundária).

Os vasos possuem igualmente um papel activo na formação do tampão primário: produzem substâncias prótrombóticas (factor vW, tromboxano A_2), substâncias antitrombóticas (PGI_2 e NO) e substâncias fibrinolíticas (activador do plasminogénio tecidual ou tPA) (Fry & McGavin, 2007).

O tampão primário forma-se rapidamente, mas é instável e terá uma curta duração. Não é essencial e apenas serve de base física ao tampão secundário.

- *Formação do Tampão Secundário:* Em simultâneo com a adesão das plaquetas, é activada a cascata de coagulação cujo objectivo final é produzir fibrina para formar o Tampão Hemostático Secundário. Este, sendo estável e de longa duração, vai substituir o tampão primário.

1.1.1 – Hipótese Clássica da Coagulação

Segundo a hipótese clássica vigente desde 1964 (Harnett & Kerl, 2007; Couto, 2003; Meyer et al., 1992), a fibrina pode ser produzida por duas vias alternativas (intrínseca e extrínseca) que se continuam por uma via comum (quadro 1).

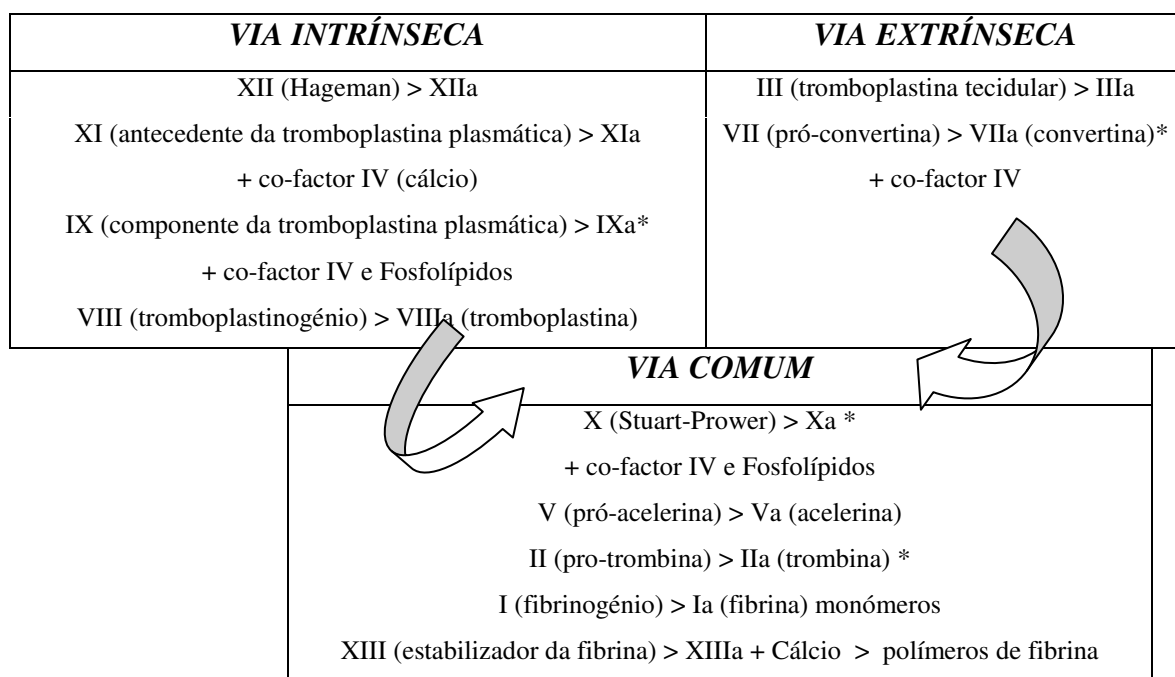
- Via Intrínseca - utiliza os elementos de coagulação: factores XII, XI, IX e VIII. O factor XII (o iniciador da cascata) é activado por contacto com o colagénio subendotelial. Cada factor que se activa promove a activação do factor que lhe segue.
- Via Extrínseca - utiliza os factores tecidulares III e VII: pró-coagulantes libertados pelos tecidos que sofreram o traumatismo.
- Via Comum - inicia-se após a activação dos factores VIII ou VII derivados das vias intrínseca e extrínseca, respectivamente. Desenrola-se com a intervenção dos factores X, V, II, I e XIII e termina na formação das moléculas de fibrina que integram o tampão secundário.

A vitamina K é necessária à carboxilação pós-ribossomal dos resíduos glutamyl dos factores II, VII, IX e X, e intervém na síntese da proteína C (referida adiante nos mecanismos fibrinolíticos). Quando há défice de vitamina K (insuficiência hepática, má absorção ou antagonismo) o fígado sintetiza proteínas semelhantes, mas inactivas, as chamadas PIVKA (produtos da inibição do

antagonismo da vitamina K) (Carr, 2005; Couto, 2003). Quando se administra a vitamina para reverter a situação de défice, os PIVKA circulantes são rapidamente convertidos nos factores de coagulação funcionais, com o seu tempo de semi-vida normal, duma maneira geral curto. Daí que nas situações de antagonismo por raticidas, a suplementação tenha de ser regular e prolongada.

Quadro 1 – Esquematização das vias de coagulação na hipótese clássica.

Adaptado de Couto (2003) e Meyer et al. (1992).



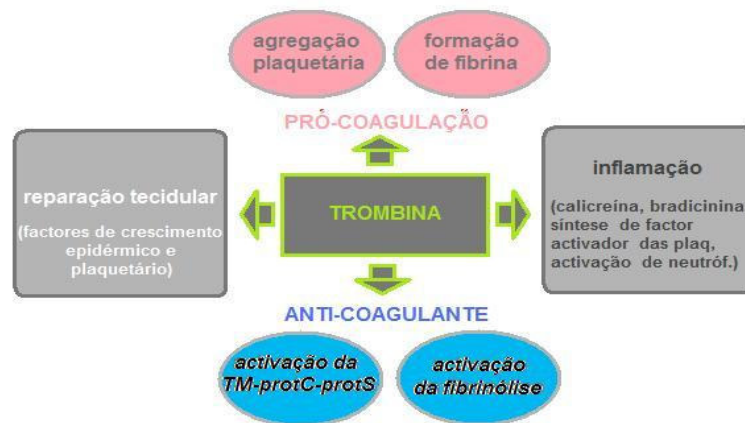
* factores dependentes da vitamina K (presentes em todas as vias)

1.1.2 – Hipótese Revista da Coagulação

Na perspectiva clássica a via intrínseca era considerada a mais importante, sendo a extrínseca uma via alternativa. Actualmente considera-se que é o factor VII o iniciador da coagulação *in vivo* (Brooks et al., 2005). Devido à compreensão de novas interacções hemostáticas, a trombina tem um papel mais central, não só pela sua intervenção nas vias da coagulação, mas também pelo seu papel biológico na proliferação celular e na inflamação (Gentry, 2007) (fig. 11).

Figura 11 - Esquema do papel da trombina na hemostase, inflamação e reparação dos tecidos.

Adaptado de Gentry (2007).



Na hipótese revista da coagulação estabelecem-se 2 vias, em função da produção de trombina (Gentry, 2007; Harnett & Kerl, 2007).

- a Via do Factor Tecidual (TF, que equivale de alguma forma à via extrínseca) (figura 12)
- o Sistema de Activação por Contacto (equivalente à via intrínseca) (figura 14).

1.1.2.1 – Via do Factor Tecidual

O factor tecidual (TF) está quiescente nas células endoteliais e monócitos. Quando o subendotélio das células endoteliais fica exposto (ou quando citocinas ou endotoxinas estimulam monócitos e células endoteliais) (Gentry, 2007; Carr, 2005) o TF expressa-se à superfície das células onde estava quiescente e liga-se ao factor VII, activando-o (fVIIa). O factor VII é a forma predominante em circulação, apesar de existir em permanência alguma quantidade de fVII activado circulante.

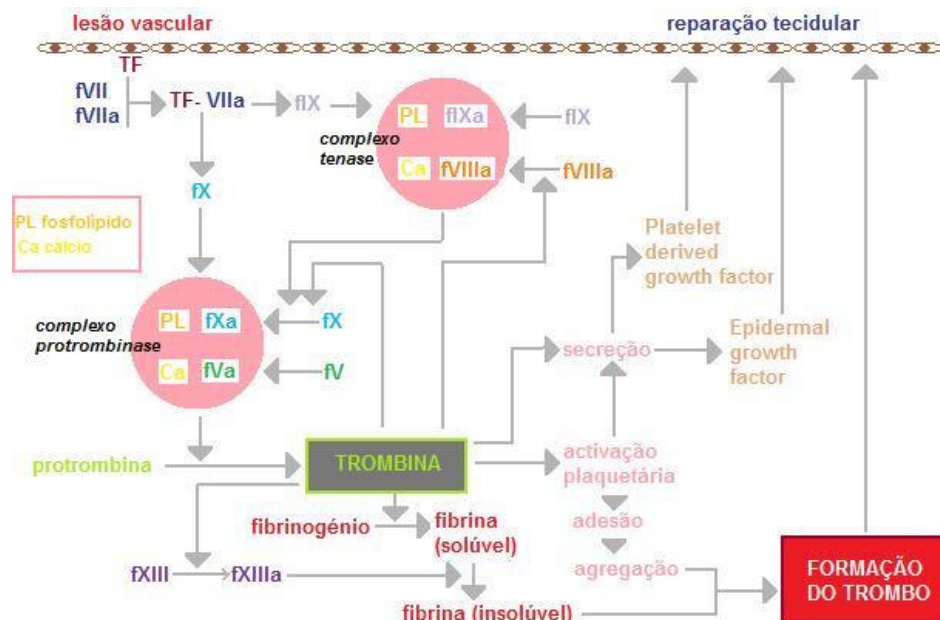
A ligação do fVIIa ao TF despoleta a coagulação: são activadas novas moléculas de fVII e TF. As moléculas fVIIa e TFa activam os factores IX e X (em fIXa e fXa). Estes factores IXa e Xa podem permanecer associados às células que expressam TF ou podem difundir-se na corrente sanguínea e ligar-se a plaquetas activadas nas imediações do tecido lesado. Durante a activação das plaquetas, os fosfolípidos negativamente carregados à superfície destas células (também denominados factor III), funcionam como sítios de ligação para os factores de coagulação, co-factores de coagulação e ainda para o cálcio. O factor Xa forma um complexo com fosfolípidos, cálcio e factor V, denominado Complexo Protrombinase, que induz a activação da protrombina em trombina.

As primeiras moléculas de trombina formadas a partir deste Complexo Protrombinase iniciam um *feedback* positivo que acelera a taxa de activação da protrombina e amplifica a quantidade de trombina gerada. O *feedback* da trombina no Complexo Protrombinase consiste na promoção da activação do fX em fXa e na clivagem proteolítica do fV em fVa. Em consequência, aumenta igualmente a taxa de produção de fibrina. A trombina acentua mais extensamente o *feedback* positivo ao estimular as plaquetas locais (favorece a activação, a adesão e a secreção por parte dessas células).

O complexo TF-VIIa-Xa inicia a formação de trombina, mas não consegue manter a produção por tempo suficiente e gerar trombina em quantidade significativa. Isto deve-se à presença do anticoagulante natural TFPI (*tissue factor path inhibitor* ou inibidor da via do factor tecidual). O TFPI circula no sangue ligado a lipoproteínas e a plaquetas, e também se encontra na superfície das células endoteliais associado ao sulfato de heparano. Este inibidor liga-se ao complexo TF-VIIa-Xa, através do fXa, convertendo-o num complexo quaternário inactivo. A via do TF fica efectivamente inibida e a continuação da coagulação depende de outras vias, além daquela que iniciou o processo (Harnett & Kerl, 2007; Carr, 2005).

Figura 12 - Esquema da hipótese revista da coagulação: via do factor tecidual.

Adaptado de Gentry (2007).



Para contornar o efeito anticoagulante do TFPI, inicia-se uma via alternativa de activação do fX que contribui para a produção de mais trombina. O *feedback* da trombina activa o fV, o fIX e o fVIII. O fIX é completamente activado quando o fXa e o complexo VIIa-TF clivam todas as

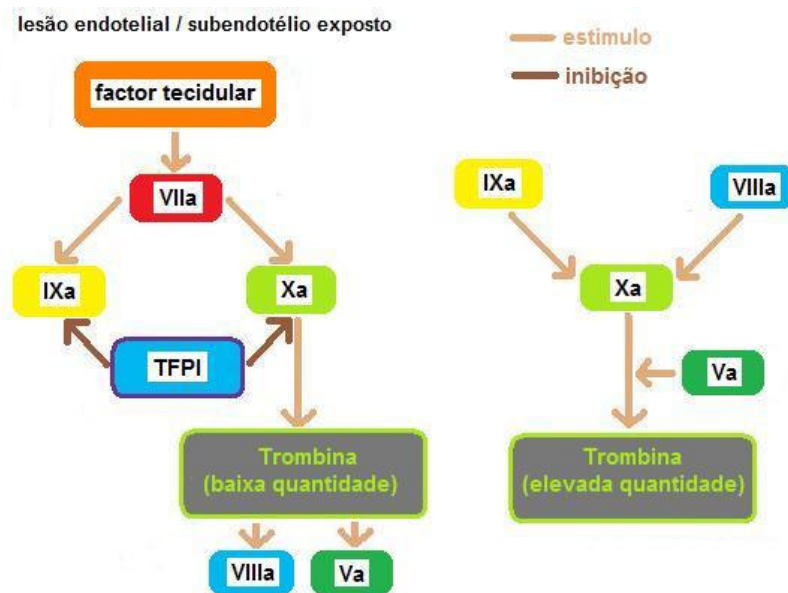
partes da molécula. O fVIII normalmente circula ligado ao fvW. Por acção da trombina, o fVIII dissocia-se do fvW e complexa-se com fIXa, cálcio e fosfolípidos da superfície das plaquetas activadas pela trombina. O complexo resultante, Complexo Tenase, é extremamente activo, clivando proteoliticamente o fX no mesmo local que o anterior complexo TF-VIIa e levando à síntese do mesmo produto fXa. O Complexo Tenase também pode ser gerado pelo Sistema de Activação de Contacto.

Os últimos avanços atribuem ao factor VII um papel de destaque na coagulação (Harnett & Kerl, 2007) (figura 13). Embora não tenha tanta capacidade de activar o factor X, como na concepção clássica, o fVIIa estimula a activação dos factores IX e X. Contudo, tanto o fXa como o fIXa são inactivados pelo TFPI.

De modo a retomar a coagulação é produzido fX adicional a partir do IXa e do VIIa. A trombina medeia a produção de fXI activado e por sua vez activa-se mais fIX para suplementar o que é produzido pela Via do Factor Tecidular.

Figura 13 – Esquema que realça a importância do factor tecidular.

Adaptado de Harnett & Kerl (2007).



1.1.2.2 – Sistema de Activação por Contacto

A iniciação deste sistema envolve 4 componentes: as proenzimas fXII e fXI, a pré-caliceína (PK) e o quininogénio de elevado peso molecular (HMWK ou *high molecular weight kininogen*) (Gentry, 2007; Harnett & Kerl, 2007; Carr, 2005). A via inicia-se quando o factor XII interage

como também estimula a quimiotaxia e a desgranulação dos neutrófilos atraídos. Assim, este sistema serve de elo entre inflamação, formação de trombina e fibrinólise (Gentry, 2007).

Esta nova cascata ainda não explica todas as anomalias clínicas que estão descritas, portanto é natural que com o decurso dos anos possa voltar a ser reformulada (Carr, 2005).

O passo final da coagulação é a conversão de fibrinogénio solúvel numa rede de fibrina insolúvel, mediada pela trombina e pelo factor XIIIa (Gentry, 2007; Carr, 2005; Meyer et al., 1992). O fibrinogénio é uma grande molécula globular, com 2 pares idênticos numa série de 3 cadeias proteicas, unidas por pontes dissulfeto. Primeiro a trombina interage com o fibrinogénio clivando-o em 2 pequenas cadeias peptídicas (fibrinopéptidos A e B). A carga eléctrica da molécula é alterada e os monómeros solúveis de fibrina podem polimerizar espontaneamente (topo a topo e lado a lado, por ligações covalentes). A transformação deste arranjo permeável numa estrutura mais densa requer a formação de pontes peptídicas estáveis entre as cadeias. O factor XIIIa, activado pela clivagem do precursor da trombina, fXII, cataliza a formação dessas ligações numa reacção cálcio-dependente. A produção máxima de trombina ocorre após a formação das primeiras bandas de fibrina.

Além de ser importante para a activação do fXIII, a trombina é indispensável para a activação da proteína TAFI (inibidor da fibrinólise activada pela trombina ou *thrombin-activable fibrinolysis inhibitor*) que previne a degradação prematura do coágulo e também participa na activação do sistema anticoagulante trombomodulina-proteína C-proteína S. Este último sistema evita a formação de trombina na circulação sistémica. A prevenção da fibrinólise é ainda assegurada pela α 2-antiplasmina (que inactiva rapidamente a plasmina, como se verá adiante nos mecanismos anticoagulantes) e pelo PAI-1 (inibidor-1 do activador do plasminogénio tecidual ou *tissue plasminogen activator inhibitor-1*) inibidor das moléculas que activam o plasminogénio em plasmina, também referido adiante (Carr, 2005).

1.1.3 – Parâmetros Laboratoriais para avaliação da coagulação

Podem aplicar-se provas analíticas que avaliam a funcionalidade das referidas vias. Quando se usam com o objectivo de diagnóstico é importante que as amostras de sangue sejam colhidas antes de efectuar qualquer tratamento, já que as transfusões de sangue ou derivados e as administrações de vitamina K ou desmopressina vão interferir com os resultados (Heseltine, 2008; Harnett & Kerl, 2007; Couto, 2003; Lewis, 2000a; Mischke, 2000). A amostra de sangue deve ser recolhida usando citrato de sódio como anti-coagulante (solução 3,2-3,8%) (Scott & Matthew, 2008). A recolha de sangue deve ser ideal (à primeira tentativa numa veia que não

tenha sido puncionada nos 30 minutos anteriores, sem exercer demasiado vácuo, sem traumatizar a veia para evitar a activação das plaquetas). (Scott & Matthew, 2008). Pode tirar-se a amostra de sangue através dum catéter já colocado, desde que se faça a eluição do espaço do catéter com solução salina, cerca de 6 vezes seguidas, e se despreze as primeiras gotas de sangue. O mesmo autor recomenda que se separe o plasma por centrifugação até 1 hora após a colheita quando se tenciona armazenar a amostra para que seja analisada posteriormente (armazenamento à temperatura ambiente quando se vão realizar as provas de coagulação até 4 horas após a colheita ou armazenamento em congelação quando se vão realizar as provas até 24 horas após a colheita).

1.1.3.1– Via Intrínseca/Sistema de Activação de Contacto e Via Comum

Para as *vias intrínseca e comum/via de activação por contacto* dispomos do Tempo de Tromboplastina Parcial Activada (APTT). Mistura-se plasma citratado com reagente de APTT (activadores, cálcio e fosfolípidos) e avalia-se o tempo decorrido até à formação de fibrina. A coagulação não vai depender do número de plaquetas (Gentry, 2007; Carr, 2005; Couto, 2003; Mischke, 2000) por isso quando o APTT aumenta há uma anomalia ou inibição dos factores da via intrínseca XII, XI, IX e/ou VIII ou dos factores da via comum X, V, II e/ou I (Scott & Matthew, 2008). Os valores de referência variam com os reagentes utilizados (por exemplo, na prova da *Behring Pathrombin*, o intervalo normal é de 14,5 a 19,0 segundos) (Mischke, 2000). O aumento é fisiológico nos recém-nascidos (Mischke, 2000). Quando o APTT diminui significa que ou a amostra foi mal recolhida ou existe hipercoagulabilidade (pós-cirúrgica, inflamatória ou devida a tromboembolismo venoso agudo). O APTT não tem apenas utilidade no diagnóstico; tem também como finalidade o controlo clínico (no pré-operatório, na terapêutica com heparina, etc.).

Uma variante simplificada do APTT é o Tempo de Coagulação Activada (ACT), muito mais rápido e por isso ideal para a avaliação inicial num paciente hemorrágico e para uma avaliação pré-cirúrgica (discussão mais detalhada no ponto 3.1.2). Para já, basta referir que também fica aumentado quando há alterações na via intrínseca/comum quer seja por deficiência de factores de coagulação, quer seja por uma inibição desses factores (Scott & Matthew, 2008).

1.1.3.2 – Via Extrínseca/Via do Factor Tecidular e Via Comum

Para as *vias extrínseca e comum/via do factor tecidular* determina-se o Tempo de Protrombina (PT) (Scott & Matthew, 2008; Mischke, 2000; Meyer et al., 1992). Incuba-se plasma com o reagente específico e calcula-se o tempo até à formação de fibrina. Nos cães a elevada actividade dos factores de coagulação implica que se faça uma diluição prévia. O resultado é expresso sob a forma dum quociente ou percentagem com um intervalo de referência definido

para cada espécie. Como exemplo são aqui apresentados os intervalos de referência para o PT definidos por Mischke (2000): cão – quociente entre 0,84 e 1,15 ou percentagem entre 75 e 130%; gato – quociente entre 0,86 e 1,14 ou percentagem entre 60 e 150%. Quando o PT está prolongado há uma alteração a nível dos factores da via extrínseca III e/ou VII ou dos factores da via comum X, V, II e/ou I (Scott & Matthew, 2008). Tem igualmente aplicação na monitorização de afecções por antagonismo da vitamina K e no tratamento da hiperfibrinólise.

1.1.3.3 – Via Comum

Quer o APTT quer o PT podem usar-se na avaliação da funcionalidade da via comum, mas como se viu não são exclusivos desta etapa da coagulação.

O passo final da *via comum* (consolidação do coágulo à custa da conversão do fibrinogénio em fibrina) é avaliado pelo Tempo de Coagulação da Trombina (TCT). (Mischke, 2000; Meyer et al., 1992). Adiciona-se trombina ao plasma sanguíneo citratado e mede-se o tempo necessário para a formação de coágulo. Quando está prolongado conclui-se que existe pouca quantidade de fibrinogénio em circulação no animal, excessiva quantidade de PDF ou heparina.

1.1.3.4 – Outras determinações

A Concentração de Fibrinogénio pode ser avaliada para reconhecer a deficiência congénita ou o excesso de perda/desgaste de fibrinogénio. A concentração de fibrinogénio é um parâmetro inespecífico: indicador de desidratação ou inflamação (Abrams-Ogg, 2006), marcador inespecífico de inflamação (proteína de fase aguda que aumenta em resposta a inflamações, cirurgias e estados urémicos) (Mischke, 2000) e indicador da fase inicial de CID.

A hiperfibrinogénemia aumenta a viscosidade e a coagulabilidade do sangue (Brooks & Catalfamo, 2005). Existem métodos analíticos que podem ou avaliar a porção hemostaticamente activa da proteína (exemplo, método de Clauss) ou o fibrinogénio como molécula, independentemente da sua função (método de Schulz) (Mischke, 2000). Para fins clínicos, importa mais o primeiro, que não só quantifica o fibrinogénio, como também mede a sua eficiência hemostática. O método de Clauss é um ensaio funcional do fibrinogénio, através do qual se calcula a concentração em mg/dL. Esta concentração pode ser inversamente relacionada com o Tempo de Trombina (TT). O TT aumenta em situações de hipo/afibrinogénemia (por défice hepático ou consumo excessivo) ou disfibrinogénemia. As situações em que o TT aumenta podem não ser acompanhadas de trombocitopénia a menos que ocorra uma hemorragia (Scott & Matthew, 2008).

Há outras determinações possíveis para avaliação da capacidade de coagulação, mas saem do âmbito desta dissertação (determinações da actividade de factores de coagulação específicos,

ensaio para inibidores dos factores de coagulação, tromboelastografia para avaliar todo o fenómeno de formação e dissolução do trombo) (Scott & Matthew, 2008; Mischke, 2000). Convém apenas referir a prova de actividade do factor Xa (teste anti-Xa) que tem aplicação nos animais aos quais se administra heparina de baixo peso molecular (Scott & Matthew, 2008; Harnett & Kerl, 2007).

1.2 – Mecanismos Anti-coagulantes

Após a coagulação, são accionados os mecanismos endógenos que a regulam e previnem que seja excessiva. Estes mecanismos restringem a formação do coágulo ao local de lesão vascular e neutralizam os pró-coagulantes que possam perder-se para a circulação sistémica (Gentry, 2007).

1.2.1 – Actividade dos Anti-coagulantes

1.2.1.1 – Plasmina: A plasmina (molécula de plasminogénio activada) é responsável pela fibrinólise mediante dois tipos de efeitos: lise (do coágulo ou trombo) e inibição (da agregação plaquetária e das vias de coagulação) (Gentry, 2007; Carr, 2005; Couto, 2003). A fibrinólise é activada pelos mesmos estímulos que induzem a coagulação e é uma importante salvaguarda contra a formação de trombos e contra a excessiva coagulação.

A actividade desta fibrinolisa sobre a fibrina dá origem aos produtos de degradação do fibrinogénio (PDF), entre os quais os dímeros-D. A plasmina actua também sobre o fibrinogénio, fV, fVIII e vários componentes da matriz extracelular originando outros produtos de degradação, mas nestes casos não produz dímeros-D (Gentry, 2007; Dufort & Matros, 2005).

Estão descritos dois mecanismos de fibrinólise: Fibrinólise Mediada por Superfícies (*surface-mediated*) e Fibrinólise de Fase Fluida (*fluid-phase*) (Gentry, 2007; Carr, 2005) (figura 15). O plasminogénio, sintetizado pelos hepatócitos, pode ser transformado em plasmina por acção de dois activadores: o tPA (*tissue-type plasminogen activator* ou activador de plasminogénio de tipo tecidual) e o uPA (*urokinase plasminogen activator* ou activador de plasminogénio do tipo uroquinase). O plasminogénio é incorporado no coágulo e, na presença de trombina, o endotélio liberta o tPA. Este activador (tPA) só activa o plasminogénio ligado à fibrina e incorporado no coágulo (fibrinólise mediada por superfícies). A nível da circulação actua melhor o uPA (fibrinólise de fase fluida).

A fibrinólise mediada por superfícies inicia-se com a formação do próprio trombo. Quando este começa a formar-se, a trombina activa a secreção de tPA, mas esse efeito é contrariado pelo TAFI (igualmente libertado sob estímulo da trombina). As plaquetas activadas iniciam também a

libertação de PAI-1 (referido em seguida) até que se forme um trombo organizado. Nessa altura o tPA associa-se à fibrina aumentando a eficiência catalítica da transformação de plasminogénio em plasmina.

A *fibrinólise de fase fluida* envolve o uPA e corresponde à rápida activação do plasminogénio no compartimento fluido da circulação. O uPA e a plasmina são importantes na dissolução lenta da fibrina, que principia logo que a reparação tecidular fica completa. O uPA é sintetizado pelos rins e macrófagos sob a forma de pró-uroquinase (ScuPA – *single-chain urokinase-type plasminogen activator*). A clivagem selectiva do ScuPA na forma activa uPA é mediada pela calicreína (via sistema de activação por contacto ou via inflamação). Ao contrário do tPA, o uPA não tem afinidade específica, logo pode activar indiscriminadamente o plasminogénio integrado no coágulo, o plasminogénio circulante ou outras proteínas plasmáticas. A plasmina formada pelo uPA fora do coágulo pode ser rapidamente neutralizada pela $\alpha 2$ -antiplasmina, mas quando esta via de inibição fica saturada o uPA poderia começar a degradar o fibrinogénio, o fV ou o fVIII, portanto a fibrinólise é regulada por outras moléculas que previnem a generalização do processo: $\alpha 2$ -antiplasmina e PAI-1 (Gentry, 2007; Carr, 2005).

A $\alpha 2$ -antiplasmina inactiva a plasmina livre, permitindo apenas a acção da plasmina incorporada no coágulo, sendo o maior inibidor plasmático da plasmina. Por sua vez o PAI-1 é o maior inibidor da activação do plasminogénio, encontrando-se em reserva nas plaquetas (Gentry, 2007). O PAI-1 inactiva o tPA e o uPA quando já foi gerada uma quantidade suficiente de plasmina. O PAI-1 existe numa concentração 5 vezes superior à do tPA, logo a maior parte do tPA circulante está inactivado pelo PAI-1 (Carr, 2005).

Um mecanismo de fibrinólise exagerado pode ser tão prejudicial como um mecanismo de coagulação insuficiente. Ambos podem conduzir a hemorragia espontânea. Contudo, a hemorragia espontânea por fibrinólise excessiva é rara (Couto, 2003): a hiperfibrinólise primária não está descrita nos animais e a hiperfibrinólise secundária é menos frequente que em seres humanos (Gentry, 2007). Ao contrário do que se passa em humanos, nos canídeos e felídeos o sistema fibrinolítico não é particularmente afectado após uma cirurgia, embora possa haver alterações relacionadas com a inflamação.

1.2.1.2 – Anti-trombina (AT): Esta alfa₂-globulina, anteriormente denominada anti-trombina III, é uma proteína sintetizada pelos hepatócitos e células endoteliais que funciona como co-factor da heparina (Fry & McGavin, 2007). O complexo actua através de uma reacção de inactivação, que se processa lentamente. Quer a heparina endógena, quer a exógena aumentam a taxa de formação

de complexos inibidores Trombina-Anti-Trombina (TAT). Tem efeito inibidor sobre os factores activados X e trombina, afectando também os factores IXa, XIIa e calicreína (Scott & Matthew, 2008; Mischke, 2000) e ainda o VIIa e o XIa (Harnett et al., 2007). Os complexos inibidores são removidos da circulação por fagocitose (pelo sistema mononuclear fagocítico) e por endocitose e degradação lisossomal (pelas células endoteliais) (Gentry, 2007). A AT inibe preferencialmente 3 formas de trombina impedindo que esta possa clivar o fibrinogénio em fibrina. O seu efeito inibidor é potenciado por complexos com sulfato de heparano expostos à superfície das células endoteliais activadas. Supõe-se que a AT é responsável por 80% do efeito anti-coagulante do plasma (Harnett & Kerl, 2007).

1.2.1.3 – Proteína C e Proteína S: Produzidas pelos hepatócitos, são anti-coagulantes dependentes de vitamina K que previnem a coagulação excessiva (Gentry, 2007; Carr, 2005; Couto, 2003). A proteína C (PC) é uma inibidora específica dos factores V e VIII activados (Harnett & Kerl, 2007; Carr, 2005). Sintetizada pelo fígado sob a forma zimogénica, é convertida na forma activa (APC ou proteína C activada) à superfície de células endoteliais intactas (Gentry, 2007). A conversão em APC é promovida pela trombina ligada a uma proteína de membrana (trombomodulina ou TM), num complexo T-TM (trombina-trombomodulina). A TM encontra-se nas células endoteliais de vasos sanguíneos e linfáticos, sobretudo nos pontos onde o fluxo sanguíneo é mais lento e as concentrações de trombina são mais elevadas (Gentry, 2007).

A APC pode clivar os co-factores ligados à membrana e, com fosfolípidos, formar os produtos inibitórios do fVa (fVai) e do fVIIIa (fVIIIai). Estes, por sua vez, suprimem a actividade dos Complexos Protrombinase e Tenase. A clivagem dos factores Va e VIIIa dentro dos complexos enzima-fosfolípido é facilitada pelo co-factor vitamina K e proteína S (PS). Só a forma circulante da proteína S pode complexar-se com a APC. Esta forma circulante representa 30% da concentração plasmática total, estando a maior parte dessa fracção ligada a proteínas C4b (*complement regulatory protein C4b-binding protein* ou proteínas de ligação à proteína reguladora do complemento C4b) (Gentry, 2007). *In vivo* a APC não separa o fVIII do fvW, mas pode clivar o V e Va circulantes, em parte porque estes podem ligar-se aos fosfolípidos nas imediações do complexo APC-PS. O fV clivado pode funcionar em sinergia com a PS, como co-factor da APC na degradação do fVIIIa. Logo tem de se considerar o factor V como potencial anticoagulante, uma vez que intervém na regulação do complexo tenase pelo APC e PS.

1.2.1.4 – Outros anti-coagulantes: Além do **factor V** referido acima, na actual concepção da coagulação, considera-se o **TFPI** como inibidor adicional, uma vez que inibe o complexo factor tecidual-factor VIIa, bloqueando assim a via extrínseca da coagulação (Harnett & Kerl, 2007).

1.2.2 – Parâmetros Laboratoriais para avaliação dos anti-coagulantes

A funcionalidade do sistema fibrinolítico pode ser avaliada com a determinação da concentração de PDF e de dímeros-D (para evidenciar situações de trombose e fibrinólise subsequente) e com a determinação da actividade da AT e da PC (para detectar estados pró-trombóticos) (Scott & Matthew, 2008; Gentry, 2007; Carr, 2005; Couto, 2003; Mischke, 2000). A determinação da actividade dos anticoagulantes naturais é bastante indicativa, mas não está disponível para utilização clínica rápida.

1.2.2.1 – Concentração de Produtos da Degradação do Fibrinogénio (PDF) – A determinação deste parâmetro aplica-se sobretudo para detectar o aumento da fibrinólise/fibrinogenólise, em situações secundárias a fenómenos de coagulação localizada ou disseminada ou em situações secundárias a uma diminuição do *clearance* dos produtos de degradação da fibrina/fibrinogénio (Scott & Matthew, 2008). Essas situações podem ou não estar associadas a trombocitopenia e nesse sentido a determinação da concentração de PDF auxilia o diagnóstico de causas que se manifestam com trombocitopenia.

Para diagnosticar o aumento da fibrinólise/fibrinogenólise podem empregar-se métodos directos ou métodos indirectos. A determinação da concentração de Produtos de Degradação do Fibrinogénio é um método indirecto (Mischke, 2000). Esta determinação pode fazer-se por diversos procedimentos analíticos, mas os mais utilizados são o teste de aglutinação em látex e o teste de coagulação de *Staphylococcus spp.*. A maioria das técnicas é pouco específica porque os anticorpos usados para detectar PDF também se ligam ao fibrinogénio e à fibrina (Dufort & Matros, 2005).

A concentração de PDF está normal na maioria das desordens de hemostase, excepto nos casos de CID e de antagonismo da vitamina K, ou seja, eleva-se quando ocorre hiperfibrinólise/hiperfibrinogenólise. A hiperfibrinólise primária é rara como já se referiu. A concentração de PDF aumenta invariavelmente em cães e gatos com CID, aumenta em cerca de metade dos animais intoxicados com raticidas (o mecanismo não está totalmente compreendido, mas julga-se que os antagonistas da vitamina K possam activar a fibrinólise, através da inibição do PAI-1) e aumenta nas situações de pós-cirúrgico, traumatismos, inflamações, insuficiência renal e hepática e resolução de hematomas (Scott & Matthew, 2008).

1.2.2.2 – Concentração de Dímeros-D – Esta informação pode ser obtida através de um teste rápido de aglutinação em látex, apenas validado para cães e cavalos (Fry & McGavin, 2007). As moléculas de dímeros-D resultam da degradação das ligações cruzadas de fibrina pela plasmina (Gentry, 2007) e a sua concentração correlaciona-se com o grau de fibrinólise. Os dímeros-D não

são gerados por uma reacção de lise inespecífica pela plasmina (como os PDF) portanto são marcadores específicos de lise de coágulos, quer seja localizada, quer seja generalizada (Scott & Matthew, 2008; Gentry, 2007; Dufort & Matros, 2005). A concentração de dímeros-D está normal nas trombozes patológicas sendo que o teste de dímeros-D negativo permite descartar tromboembolismo pulmonar (Fry & McGavin, 2007). Aumenta nas situações de hiperfibrinólise e permite, com um nível de confiança de 99,5%, diagnosticar CID (dímeros-D positivo) (Abrams-Ogg, 2006; Dufort & Matros, 2005). Dois autores defendem que a concentração de dímeros-D aumentada não é específica de hiperfibrinólise (o aumento da concentração de dímeros-D pode dever-se à diminuição do clearance destes produtos) (Scott & Matthew, 2008). Os mesmos autores acrescentam que a concentração de dímeros-D está aumentada em situações de fibrinólise sem repercussões hemostáticas severas (trauma, inflamação e cirurgia).

1.2.2.3 – Actividade da Anti-trombina – Este parâmetro determina-se através de um ensaio funcional que mede a actividade anti-IIa ou anti-Xa e o resultado é expresso em percentagem da actividade num dado animal em relação à actividade da AT no plasma dum animal saudável (Scott & Matthew, 2008). A actividade da AT está normalmente reduzida nos animais com hipercoagulabilidade (por deficiência de AT devida a perda ou subprodução hepática ou por consumo nos processos de coagulação). Alguns autores consideram que sempre que a actividade da AT diminui os animais ficam predispostos para CID (Abrams-Ogg, 2006). Outros autores referem que mesmo quando há predisposição para hipercoagulabilidade, a actividade da AT pode encontrar-se dentro dos valores de referência (Harnett & Kerl, 2007). A anti-trombina tem geralmente a actividade reduzida quando já ocorreu a formação de trombos. Outras situações que contribuem para a diminuição da actividade deste anti-coagulante são a perda de proteína por nefro ou enteropatia e a terapêutica com heparina (Scott & Matthew, 2008). A quantificação da actividade da AT é recomendável nos tratamentos com heparina, já que esta aumenta o consumo do anticoagulante AT e a eficácia do tratamento depende da presença de anti-trombina (Mischke, 2000).

2 – INTRODUÇÃO ÀS ALTERAÇÕES DE COAGULAÇÃO

As alterações de hemostase que se manifestam por hemorragia não são exclusivamente causadas por trombocitopénia. É necessário um exame físico que rapidamente oriente o diagnóstico e permita actuar com celeridade num animal potencialmente em risco de vida.

Existem diversas formas de caracterizar as alterações de hemostase. Há que diferenciar em primeira instância as alterações primárias das secundárias, isto é, as anomalias na formação do tampão primário das anomalias na formação do tampão secundário. As *alterações primárias* ocorrem quando os elementos que intervêm na produção do tampão hemostático primário não funcionam (plaquetas insuficientes ou não funcionais, vasos alterados). Do ponto de vista clínico, se não se formar o tampão primário, as pequenas hemorragias que surjam acabarão por ser controladas tardiamente pelo tampão secundário. A hemostase é prolongada, mas acaba por ocorrer.

Uma *anomalia hemostática secundária* é aquela em que não se forma o tampão secundário porque um ou mais dos elementos que nele intervêm são incompetentes (factores de coagulação, factores tecidulares e proteínas pró-coagulação). Esses intervenientes podem estar ausentes ou em quantidade insuficiente, podem ser anormais ou estar inibidos. Clinicamente, perante uma hemorragia, forma-se rapidamente o tampão primário que a controla, mas, como este é extemporâneo, sofre lise sem que se forme o tampão secundário e a hemorragia recrudescer (hemorragia “retardada”).

A trombocitopénia (sobretudo a imuno-mediada), é a principal causa de hemorragia espontânea ou excessiva em cães com anomalias de coagulação, seguida pela a CID e pela intoxicação por antagonistas da vitamnina K (Abrams-Ogg, 2006; Couto, 2003). Os gatos raramente têm hemorragias espontâneas. As alterações da hemostase nos gatos prendem-se sobretudo com insuficiência hepática, neoplasia e PIF.

2.1 – Etiopatogenia e sinais clínicos das alterações hemostáticas:

Entre as alterações primárias incluem-se: trombocitopénia, disfunção plaquetária e, muito raramente, anomalias vasculares. Clinicamente manifestam-se por hemorragias superficiais: petéquias e equimoses na pele e hemorragia das mucosas (hemorragia gengival, hematemesa, melena, hematoquécia, epistaxis, hemoptise, hemorragia peniana/prepucial/vulvar ou hematúria, hemorragia da íris/retina ou hifema). As hemorragias podem ser espontâneas e são prolongadas, mas limitadas (só são contidas quando se forma o tampão secundário).

A trombocitopénia é a causa mais frequente e é a que será abordada adiante com maior detalhe nesta dissertação.

A disfunção plaquetária é menos comum, podendo ser congénita (Trombopatia canina do Basset e do Fox Hound) ou adquirida (urémia, disproteinémia, doença hepática, pancreatite, doença mieloproliferativa, Lúpus Eritematoso Sistémico, induzida por fármacos, hipotireoidismo, síndrome nefrótico, diabetes e hiperadrenocorticismismo) (Brooks & Catalfamo, 2005; Carr, 2005; Couto, 2003; Russel & Grindem, 2000). As causas congénitas são raras, à excepção da doença de von Willebrand em que o defeito completo ou parcial do factor de vW afecta a função plaquetária. As disfunções adquiridas são mais comuns e geralmente são secundárias a outra patologia ou a fármacos. Estas disfunções plaquetárias afectam a actividade das plaquetas de várias formas e podem inclusivamente afectar outros componentes da coagulação. Certos autores diferenciam as disfunções (diminuição da função plaquetária) das trombopatias (podem aumentar ou diminuir a função plaquetária) (Brooks & Catalfamo, 2005; Dufort & Matros, 2005).

Como se referiu anteriormente as alterações vasculares primárias são extremamente raras em medicina veterinária e nem há um método padronizado para o seu diagnóstico como em humanos (depois de excluir todos as possíveis alterações de coagulação, comprovar o aparecimento de petéquias na pele que se submete a determinadas manipulações ou determinar o tempo de hemorragia). Em veterinária assume-se que há uma anomalia vascular quando persiste a tendência hemorrágica apesar dos valores do sistema de coagulação que é possível determinar estarem dentro dos limites fisiológicos (Mischke, 2000).

As alterações secundárias ocorrem quando há défice, defeito ou bloqueio dos factores de coagulação ou de outras proteínas intervenientes na formação do tampão secundário. Uma vez que as hemorragias que surgem são apenas temporariamente limitadas pelo tampão primário, a perda de sangue prolonga-se mais tempo e eventualmente nunca fica controlada. A severidade da hemorragia costuma ser proporcional à magnitude do défice de factores (Scott & Matthew, 2008). O tipo de hemorragia presente é profunda, ou seja, para as cavidades corporais e articulações. Os volumes de sangue perdidos são maiores; formam-se hematomas em vez de petéquias e equimoses. Outra constatação é a hemorragia retardada após venipunção. Aparentemente houve coagulação, mas após alguns minutos, no local puncionado volta a fluir sangue. As hemorragias espontâneas não são tão frequentes como nas alterações primárias e podem mesmo não ocorrer. Por outro lado, é praticamente constante a hemorragia excessiva. Há autores que afirmam que a intoxicação por raticidas e a insuficiência hepática são os principais responsáveis pelos casos de

alterações secundárias de hemostase (Couto, 2003); as anomalias congénitas de factores de coagulação são ocasionais (Couto, 2003; Boudreaux, 1997).

Além de hemorragia, as afecções de coagulação nos animais podem manifestar-se por trombose ou tromboembolismo, mas a sua incidência é muito menor que nos humanos (Couto, 2003; Ware, 2003). A trombose é favorecida por estase sanguínea, lesão vascular e diminuição da actividade dos anticoagulantes naturais e fibrinolíticos e ainda por factores inerentes a determinada patologia (efeito inibidor dos corticoides no hiperadrenocorticism, efeito procoagulador na anemia hemolítica imuno-mediada, tríade de Virchow na cardiomiopatia). Quando num animal se combinam défices primários e secundários, e ainda desequilíbrio dos mecanismos anti-coagulantes, o diagnóstico é quase sempre CID (Couto, 2003), que será abordada mais adiante neste trabalho.

2.2 - Maneio do animal com uma alteração de coagulação

Na abordagem inicial, quando os resultados laboratoriais complementares tardem, o paciente crítico deve ser reconhecido e abordado com precaução. Perante pacientes com hemorragia espontânea o maneio deve ser ainda mais cuidadoso. É absolutamente desnecessária a determinação do BT (tempo de hemorragia nas mucosas) (Abrams-Ogg, 2006; Mackin, 1998). Pode ser necessário proceder a uma transfusão de sangue ou derivados ou apenas fornecer cristalóides ou colóides para combater a desidratação. Atender a que os colóides sintéticos podem diminuir a função das plaquetas devido à hemodiluição (Heseltine, 2008). Em todos os casos é fundamental minimizar a hemorragia iatrogénica e auto-induzida (Gentry, 2007; Abrams-Ogg, 2006; Couto, 2003): i) diminuir o número de venopunções e o calibre das agulhas empregue; ii) evitar administrações intra-musculares (Heseltine, 2008); iii) aplicar compressão prolongada no local de venipunção; iv) colocar um catéter e se necessário monitorizar diariamente a hematologia procurando colher apenas a quantidade indispensável de sangue; v) minimizar os procedimentos invasivos (não fazer cistocentese, embora seja seguro realizar PAAF ao baço, medula óssea, linfonodos ou massas superficiais; não drenar hemorragias cavitárias a menos que causem dispneia severa); vi) executar apenas as cirurgias urgentes; vii) manter o animal em confinamento num local atraumático e restringir o exercício físico; viii) interromper a administração de medicamentos que afectem a hemostase; ix) administrar alimentos moles para minimizar o traumatismo gengival (Heseltine, 2008); x) administrar protectores gastro-intestinais nos animais que manifestem hemorragia do tubo digestivo, apesar de não estar comprovado o seu benefício (Heseltine, 2008).

3 – MEIOS PARA O DIAGNÓSTICO DE TROMBOCITOPÉNIA E DE OUTRAS ALTERAÇÕES HEMOSTÁTICAS

3.1 – Meios de Diagnóstico Iniciais

O animal com hemorragia excessiva ou espontânea, e ainda animais de raças predispostas a coagulopatias congénitas, devem fazer um painel analítico primário para avaliar a sua capacidade hemostática. O mesmo painel é de grande utilidade na avaliação pré-cirúrgica de intervenções que se prevêem hemorrágicas (esplenectomia) e nos doentes hepáticos.

Baseia-se em quatro testes que permitem identificar as desordens mais frequentes: observação dum esfregaço, determinação do ACT, tempo de hemorragia (BT) e eventualmente determinação dos PDF.

3.1.1 – Esfregaço de sangue: a coloração Diff-Quick permite em pouco tempo estimar o número de plaquetas e avaliar a sua morfologia.

O sangue deve ser colhido com EDTA para facilitar a contagem do número de plaquetas porque minimiza a aglomeração dessas células, mas por vezes favorece a sua deposição em torno dos neutrófilos e aumenta discretamente o seu volume. Quando se encontra agregação plaquetária numa amostra bem recolhida pode-se descartar a trombocitopénia sugerida pelas contagens celulares automatizadas (pseudotrombocitopénia por agregação plaquetária, pseudotrombocitopénia por predominância de macroplaquetas não contabilizadas como plaquetas) (Thomas, 2008; Durr, Kraft, Furl, Bostedt & Heinritz, 2000). A detecção de agregação plaquetária também é uma garantia de que há pelo menos 50.000 plaquetas por μL de sangue e que a hemostase é possível (Amella, 2006).

Segundo diversos autores, as hemorragias espontâneas manifestam-se quando a contagem de plaquetas é inferior a 30.000/ μL , mas alguns autores ressalvam que o limiar possa não ser tão baixo se existir outra alteração hemostática concomitante (Heseltine, 2008; Thomas, 2008; Brooks & Catalfamo, 2005; Couto, 2003). Há várias técnicas para estimar o número total de plaquetas por unidade de volume de sangue a partir de um esfregaço observado ao microscópio óptico com objectiva de 1000x, em óleo de imersão: i) contar o número total de plaquetas em 5 ou 10 campos, calcular a média por campo e multiplicar por 15.000 (Heseltine, 2008; Thomas, 2008; Brooks & Catalfamo, 2005; Durr et al., 2000); ii) contar o número de plaquetas num campo da zona de monocamada da lâmina onde 50% dos eritrócitos se tocam (cada plaqueta contada num campo equivale a 12-15 milhares de plaquetas por microlitro no cão e a 10-12 milhares de

plaquetas por microlitro no gato) e multiplicar por 12.000 (Couto, 2003; Grindem, 2000).

A forma normal das plaquetas é discóide com prolongamentos. As formas dendríticas aparecem quando o esfregaço não foi executado com sangue recém-colhido ou quando as plaquetas se encontravam activadas antes de se fazer o esfregaço (CID; má colheita; plaquetas felinas).

As plaquetas normais, sem núcleo, apresentam pequenos grânulos intracitoplasmáticos, de cor rosa ou púrpura. Os grânulos grandes indicam anomalias de maturação e devem ser distinguidos de inclusões (mais basófilas, como o *Anaplasma platys*) (Amella, 2006).

O tamanho normal varia entre 1/4 e 2/3 do tamanho dos eritrócitos (MPV=7,5 a 10 fL) (Scott, 2000). Pode ser estimado por observação directa ou por mecanismos automatizados (MPV - *mean platelet volume*, geralmente varia em sentido inverso ao da contagem plaquetária) (Durr et al., 2000). Para avaliar correctamente o volume plaquetário o sangue deve ser colhido para citrato, já que o EDTA causa engorgitamento das plaquetas, elevando falsamente o seu volume (Thomas, 2008). Quando a avaliação das plaquetas é automatizada, o PDW é um indicador de anisocitose plaquetária (*platelet distribution width* - índice de variação do tamanho dos trombócitos).

As plaquetas jovens são maiores e vão-se tornando menores à medida que envelhecem. Assim, podem definir-se: macroplaquetas (plaquetas gigantes) – as plaquetas de diâmetro igual ou superior ao dos eritrócitos; microtrombócitos - as plaquetas de diâmetro 4 ou mais vezes inferior ao dos eritrócitos ou com MPV < 5,5fL (Witley, 2007; Brooks & Catalfamo, 2005).

As macroplaquetas (MPV aumentado) têm maior capacidade funcional e encontram-se normalmente em gatos. Nos cães surgem quando há trombopoiese reactiva e podem ser interpretadas como regeneração plaquetária caso exista trombocitopénia. Os microtrombócitos podem ser visíveis quando há trombocitopénia auto-imune em que, por fagocitose, se perdeu parte da membrana da maior parte das plaquetas (PDW estreito). Em situações de falha medular e na fase inicial de trombocitopénias imuno-mediadas também pode detectar-se uma quantidade importante de microtrombócitos, mas a maior parte das plaquetas têm a dimensão normal (PDW mais alargado). Outra situação que pode levar à diminuição do tamanho das plaquetas é o hipotireoidismo (diminui o MPV e o PDW, mas não afecta o número ou a função plaquetária). Sempre que existam plaquetas de tamanho variável diz-se que existe anisocitose plaquetária. Encontra-se nas trombocitopénias reactivas e associado a anemias regenerativas, mas é um fenómeno muito frequente e inespecífico e em gatos pode mesmo considerar-se fisiológico.

3.1.2 – Tempo de coagulação activada (ACT): É um teste de que se pode dispor numa clínica e fornece informação em menos de dois minutos. Não é um teste para o diagnóstico de trombocitopénia, mas é auxiliar ao diagnóstico porque se a carência de plaquetas for muito severa, o ACT aumenta. Além disso é útil para avaliar outras alterações de coagulação que possam existir em simultâneo com a trombocitopénia. Adiciona-se 2 ml de sangue recém-colhido a um tubo com terra de diatomáceas a 37° e aguarda-se (até 2 minutos em cães e até 65 segundos em gatos) (Meyer et al., 1992). A terra de diatomáceas activa a coagulação pela via intrínseca, à qual se segue a via comum. A cascata de coagulação deve completar-se em 60 a 90 segundos, portanto, quando o ACT está prolongado confirma-se que há uma anomalia na via intrínseca e/ou na via comum. Quando o ACT aumenta, a actividade dos factores de coagulação é normalmente inferior a 70% do normal (factores XII, XI, IX, VIII, X, V, II, I); na doença de von Willebrand nem sempre há aumento do ACT. (Quadro 2)

Quadro 2 – Alterações do tempo de coagulação activada. Adaptado de Meyer et al. (1992).

<i>ACT prolongado</i>	<i>ACT normal</i>
hemofilias CID doença hepática intoxicação por raticidas doença de von Willebrand (por vezes)	trombocitopénia (excepto < 10 mil/μL) disfunção plaquetária doença de von Willebrand alterações vasculares

3.1.3 – Tempo de Hemorragia (bleeding time BT): Consiste na realização de duas pequenas incisões na mucosa oral e na avaliação do tempo que decorre até à hemostase (normalmente 2 ou 3 minutos) (Couto, 2003). Aplica-se sobretudo a cães por serem de mais fácil contenção manual. A determinação do BT realiza-se com animal em decúbito lateral. Fixa-se uma ligadura de 5 cm de largura em volta da maxila para expor e engorgitar a mucosa do lábio superior e em seguida aplica-se e dispara-se o dispositivo de corte Simplate-II. Em simultâneo o cronómetro é iniciado. Deve-se absorver parte do sangue perdido com gaze ou papel absorvente (colocado 1 a 3 mm ventralmente às incisões, sem tocar no coágulo). O cronómetro é parado assim que a hemorragia cessar num dos cortes (normalmente a outra incisão deixa de sangrar momentos depois, a menos que tenha sido feita precisamente em cima dum vaso).

Uma variação a este método, criada em 1994 por Nolte e colaboradores (citado por Mischke, 2000), realiza-se na face lateral do dedo externo do membro anterior, junto à almofadinha plantar. O animal (sem dedação) é posicionado em decúbito ventral e coloca-se um manguito do *doppler*

no antebraço. Aplica-se pomada irritante na zona do dedo tosquiada e ao fim de um minuto removem-se os vestígios de pomada. Enche-se o manguito até aos 70 mm Hg de pressão e mantém-se assim por 1 minuto. Nessa altura realizam-se 2 punções paralelas à almofadinha, (separadas por 0,5 cm) e acciona-se o cronómetro. A cada 15 segundos deve limpar-se cuidadosamente o sangue. O cronómetro é parado assim que a hemorragia esteja controlada (só depois se esvazia o manguito). O tempo de hemorragia considerado normal com este método situa-se entre 1 e 4 minutos.

Seja qual for o procedimento utilizado, é possível diagnosticar trombocitopénia quando o tempo de hemorragia está aumentado, mas esse resultado não é específico de trombocitopénia.

Quadro 3 – Alterações do tempo de hemorragia. Adaptado de Couto (2003).

<i>BT aumentado</i>	<i>BT normal</i>
trombocitopénia/trombocitopatia	hemofilia
doença de von Willebrand	intoxicação por raticidas
intoxicação por raticidas	doença hepática
CID	
doença hepática	

O BT é normal se a fase primária da hemostase estiver íntegra (Quadro 3). Quando o BT está prolongado suspeita-se fortemente de trombocitopénia, ou, perante uma contagem de plaquetas normal, de uma disfunção plaquetária. Muito raramente o problema não é uma anomalia nas plaquetas, mas sim uma vasculopatia.

3.1.4 – Concentração de PDF: Este indicador já foi discutido no ponto 1.2.2.1. e como se referiu auxilia o diagnóstico das causas que se manifestam com trombocitopénia. Aplica-se para detectar o aumento da fibrinólise que ocorre em situações fisiológicas e patológicas: pós-cirúrgico, resolução de hematomas, insuficiência renal e hepática, CID e antagonismo da vitamina K. Noutras situações de alterações hemostáticas em que não ocorre uma fibrinólise excessiva, a concentração de PDF está dentro dos limites considerados normais.

Como se referiu, as técnicas usadas na determinação da concentração de produtos resultantes da fibrinólise detectam produtos de degradação do fibrinogénio, mas também os produtos de degradação da fibrina. A desvantagem desta prova em relação às anteriores é o facto de não se obter um resultado tão rápido.

3.2 – Meios de Diagnóstico Adicionais

Após os testes “rápidos” descritos anteriormente pode-se estreitar a lista de diagnósticos diferenciais e solicitar a um laboratório de referência provas adicionais para confirmação de determinada afecção hemostática. O sangue enviado deve obedecer a padrões de recolha e acondicionamento indispensáveis para a realização das provas. Utiliza-se o EDTA ou o citrato de sódio para a contagem de plaquetas, o citrato de sódio para estudos de coagulação (PT, APTT, concentração de fibrinogénio, dímeros-D e AT) e um tubo especial (*Trombo Wellco Test*) para determinação da concentração de PDF. O perfil mínimo deve incluir PT, APTT, contagem de plaquetas, concentração de fibrinogénio e concentração de PDF (caso não tenha sido determinada previamente).

Quando a trombocitopénia é a única alteração hemostática os valores de PT, APTT, ACT e da concentração de Fibrinogénio e PDF estão normais. Quando a trombocitopénia é muito grave o ACT e o APTT podem aumentar ligeiramente. Quando a trombocitopénia está associada a outra afecção da hemostase, o perfil de coagulação é indicativo do processo concomitante: elevação de todos os tempos de coagulação na CID e na intoxicação por raticidas, geralmente com diminuição da concentração de fibrinogénio e aumento da concentração de PDF; elevação de todos os tempos de coagulação (excepto o PT) na doença de von Willebrand acompanhada de trombocitopénia, com concentrações de fibrinogénio e PDF dentro dos valores de referência; elevação de todos os tempos de coagulação (ou de apenas alguns) e diminuição do fibrinogénio nas situações doença hepática acompanhadas por trombocitopénia, com valores normais de PDF (Scott & Matthew, 2008; Thomas, 2008; Abrams-Ogg, 2006; Couto, 2003).

O fígado é o principal local de síntese dos factores pró e anti-coagulantes. O factor VIII é igualmente produzido pelo endotélio vascular extra-hepático. Portanto, a avaliação da função hepática é fundamental na abordagem a um animal com uma desordem de coagulação.

4 – FISIOPATOGENIA DA TROMBOCITOPÉNIA

4.1 – Fisiologia da produção de plaquetas

Diariamente são produzidas cerca de 35 mil plaquetas/ μ L de sangue (Scott, 2000) e diariamente são libertadas pela medula 100 biliões destas células (Brooks & Catalfamo, 2005). Contudo, a trombopoiese é regulada em função da massa circulante de plaquetas, e não em função da quantidade. A síntese de plaquetas é promovida por factores estimuladores de colónias (CSF),

entre os quais o MK-CSF, e ainda por interleucinas (IL 1, 3, 4, 6 e 11) e trombopoietina (Fry & McGavin, 2007; Ramsey, Gunn-Moore & Shaw, 2001; Handin, 1992). *In vitro* a eritropoietina é também considerada estimulante (Fry & McGavin, 2007).

Duram 7 dias em cães e pouco mais de um dia em gatos, sendo eliminadas por monócitos e macrófagos, principalmente no baço e pulmões.

4.2 – Patogenia da Trombocitopénia

A trombocitopénia pode resultar da diminuição da produção medular ou do excesso de consumo/destruição/sequestro das plaquetas (Thomas, 2008; Couto, 2003). É cinco vezes mais frequente em cães que em gatos (Lewis, 2000a).

4.2.1 – Mecanismos gerais de Trombocitopénia

- **Diminuição de produção:** é a principal causa de trombocitopénia em gatos (consequente a alterações medulares induzidas por retrovírus). Nos cães a trombocitopénia raramente é causada por défice de produção (Couto, 2003; Lewis, 2000a). Quando a trombocitopénia se deve a uma alteração da medula, é frequentemente acompanhada por leucopénia e eventualmente anemia. As causas possíveis são hipoplasia dos megacariócitos induzida por medicamentos (estrogénios, estreptomicina, cloranfenicol, dapsona, fenilbutazona, fenobarbitona, furosemida, melfalan, lomustina) ou por irradiação; mielofitose; infecção (retrovírus FIV e FeLV, parvovírus, *Ehrlichia spp.*, fungos, bactérias e suas toxinas); urémia; aplasia medular idiopática; hipoplasia dos megacariócitos imuno-mediada; trombocitopénia cíclica (*Anaplasma platys*); hematopoiese cíclica hereditária.

- **Excesso de destruição:** é a principal causa de trombocitopénia nos cães (Thomas, 2008; Couto, 2003; Lewis, 2000a; Boudreaux, 1997). A destruição de plaquetas pode ser induzida por agentes infecciosos (anaplasmoses, babesioses, citauxzoonose, erliquioses, micoplasmoses, riquetsioses, leishmaniose, dirofilariose, doenças virais, outras infecções bacterianas e fúngicas); por medicamentos; por neoplasia (linfoma, hemangiossarcoma, mastocitoma, fibrossarcoma, adenocarcinoma nasal/mamário); por CID; por destruição imuno-mediada primária ou associada a outras doenças imuno-mediadas (LES, poliarterite nodosa, AHIM); por destruição pós-transfusional; por vacinas virais (vivas modificadas); por endotoxémia, sépticémia e vasculite; por síndrome urémico-hemolítica/ púrpura trombocitopénica trombótica ou por necrose hepática aguda. Os processos patológicos mais relevantes para a discussão dos casos clínicos apresentados no final da dissertação serão comentados adiante, quando se discutir a trombocitopénia imuno-mediada em particular.

- **Excesso de consumo/sequestro:** as afecções que levam a um consumo ou sequestro exagerado de plaquetas são devidas a doenças causadas por agentes infecciosos (anaplasmoses, babesiose, borreliose, coronaviroses, citauxzoonose, dirofilariose, erliquioses, esgana, hepatozoonose, herpesvirose/adenovirose canina-1, micoses sistémicas, leishmaniose, leptospirose e salmonelose, micoplasmoses, micoses sistémicas, parvovirose canina e panleucopénia felina, retroviroses felinas, riquetsioses, toxoplasmose, tularémia); induzidas por vacinas virais modificadas ou por medicamentos ou tóxicos (raticidas antagonistas da vitamina K, veneno de cobra); por hemorragias agudas severas/hipotermia; por CID; por neoplasias (linfoma, hemangioma/sarcoma, mastocitoma, fibrossarcoma, adenocarcinoma nasal/mamário); por patologia imuno-mediada como o LES e a AHIM; por microangiopatia, anafilaxia, endotoxémia/sépsis (sequestro pulmonar e hepático); por esplenomegália/torção/esplenite (sequestro esplénico); por alterações hepáticas (necrose aguda, shunt porto-sistémico, congestão ou cirrose) e ainda pela síndrome urémico-hemolítica/púrpura trombocitopénica trombótica (Thomas, 2008; Brooks & Catalfamo, 2005; Carr, 2005; Couto, 2003; Lewis, 2000a; Boudreaux, 1997).

Numa publicação dos anos 90 (citada por Slauson, 2002 e Grindem, 2000) calculava-se que 5% dos casos de trombocitopénia eram imuno-mediados idiopáticos (TIM Primária), 13% eram secundários a neoplasia, 23% secundários a infecção ou inflamação e 59% por outras causas (medicamentos, fármacos, etc.). Actualmente considera-se que a TIM Primária (idiopática) é a mais predominante porque esteve sempre subdiagnosticada, e as trombocitopénias secundárias mais frequentes são devidas a infecção e a neoplasia (Brooks & Catalfamo, 2005; Couto, 2003; Lewis, 2000a). Segundo os dados referidos por este último autor, o contributo dos agentes infecciosos para as trombocitopénias estima-se entre 20 e 60%.

Em gatos, o mesmo estudo do século passado (citado por Slauson, 2002 e Grindem, 2000) referia como causas de trombocitopénia: infecções em 29% dos casos, causas mistas em 22%, neoplasia em 20%, causas desconhecidas em 20%; 7% dos casos de trombocitopénia seriam secundários a cardiomiopatia e 2% seriam idiopáticos. Em 2003 a ordem não foi muito alterada, embora os valores percentuais sejam outros (Couto, 2003; Lewis, 2000a).

4.2.2 – Mecanismos específicos da Trombocitopénia Imuno-Mediada

A resposta imunitária de tipo II alterada pode afectar plaquetas, megacariócitos ou ambos os tipos de células (Miller, 2008). As células ou são recobertas por anticorpos (IgG ou IgM), formando-se o complexo de ataque membranário da via terminal do complemento (lise intravascular) ou sofrem opsonização por IgG e complemento C3b, seguida da fagocitose pelos macrófagos hepáticos e esplénicos (lise extravascular) (Slauson, 2002; Day, 1998).

Os anticorpos podem dirigir-se especificamente contra as plaquetas ou fixar-se inespecificamente à superfície destas células (os denominados PSAIg – *Platelet surface associated immunoglobulins*). O anticorpo pode unir-se à superfície da plaqueta de diferentes modos (Thomas, 2008; Day, 1998):

- a) *auto-imunidade primária* - o anticorpo pode desenvolver-se devido a um desequilíbrio imunológico primário e une-se a um determinante estrutural de membrana das plaquetas);
- b) *reação cruzada* – forma-se um anticorpo secundário a uma infecção (por exemplo, na infecção por FeLV, microorganismo portador dum epitopo de reacção cruzada). O anticorpo específico para o antígeno do agente infeccioso pode reconhecer os antígenos plaquetários;
- c) *alo-anticorpo* - um anticorpo liga-se a outro anticorpo do grupo sanguíneo e forma-se um alo-anticorpo. Este alo-anticorpo pode surgir espontaneamente ou ser induzido por uma transfusão de sangue incompatível ou pelo colostro;
- d) *auto-modificado* ou *neoantígeno*- um fármaco actua como hapteno. Quando se liga inespecificamente a uma molécula de superfície das plaquetas forma-se um novo epitopo (neoantígeno) que pode ser identificado como elemento estranho pelo sistema imunitário;
- e) *espectador inocente* - um anticorpo une-se ao epitopo estranho (dum agente infeccioso ou dum fármaco) e reage contra ele. Se o agente infeccioso (como o *Mycoplasma haemophilus*) ou a molécula de fármaco (como a penicilina) estiverem aderidos de forma inespecífica à membrana da plaqueta, esta é alvo da reacção imunitária invocada pelo epitopo estranho;
- f) *determinante críptico exposto* - um fármaco ou um microorganismo provoca a exposição dum determinante da célula até então protegido. Neste caso o anticorpo é um auto-anticorpo, mas a reacção imunitária é secundária.

O baço é o local principal de produção de anticorpos e por vezes esses anticorpos dirigem-se não só contra as plaquetas em circulação, mas também contra os megacariócitos medulares. Em muitos casos há uma causa primária que estimula a ligação do anticorpo, sendo a trombólise um fenómeno secundário. Noutros casos há um verdadeiro auto-anticorpo que se liga a um componente estrutural da membrana da plaqueta, na ausência duma causa primária, e desencadeia uma trombólise imuno-mediada. Quando não é possível identificar nenhum factor subjacente à trombólise, pode tratar-se duma reacção imuno-mediada idiopática ou auto-imune. A TIM pode aparecer acompanhada de AHIM idiopática (Síndrome de Evans) ou fazer parte duma doença imunitária multissistémica (Lúpus Eritematoso Sistémico).

4.2.2.1 – Mecanismos específicos da Trombocitopénia Imuno-mediada Primária (Púrpura Trombocitopénica Idiopática): A TIM Primária é uma reacção imunológica espontânea, na ausência duma doença subjacente. Os anticorpos (PSAIg ou verdadeiros auto-anticorpos) ligam-se à membrana plaquetária, marcando as células que serão fagocitadas precocemente pelo sistema mononuclear fagocitário. Julga-se que a integrina $\alpha_{IIb}\beta_3$, altamente imunogénica, é o alvo preferencial da reacção imunitária, efectuada sobretudo por IgG (Heseltine, 2008; Thomas, 2008; Boudreaux, 1997). O complexo glicoproteína Ib-IX é o segundo alvo antigénio alvo mais comum (Aster, 2005; Boudreaux, 1997). A destruição das plaquetas é antecipada e a medula não consegue repor a população de plaquetas sanguíneas, logo acabará por surgir trombocitopénia. Estima-se que a semi-vida das plaquetas possa ser encurtada para menos de um dia ou até menos de uma hora (Lewis, 2000b; Mackin, 1998).

4.2.2.2 – Mecanismos específicos da Trombocitopénia Imuno-mediada Secundária: A destruição de plaquetas pode ser mediada por mecanismos diferentes como foi descrito no ponto 4.2.2, dependendo da causa primária de trombocitopénia. Podem não existir verdadeiros anticorpos antiplaquetas, mas sim anticorpos aderidos à superfície das plaquetas (PSAIg - *platelet surface associated Ig*) ou em circulação no soro (PBA - *platelet bindable antibodies*), com capacidade de destruir essas células. Os PSAIg ou os PBA são induzidos por uma causa primária das que são referidas em seguida (Thomas, 2008; Brooks & Catalfamo, 2005): doenças sistémicas auto-imunes; administração de fármacos; transfusões de sangue (produção de anticorpos anti-plaquetas, eventualmente algumas semanas após a transfusão); administração de vacinas; neoplasias; agentes infecciosos (protozoários, parasitas, vírus e bactérias podem provocar a exposição de antigénios crípticos nas plaquetas ou criar espectadores inocentes que sofrem a consequente fagocitose imuno-mediada, ao mesmo tempo que podem promover o sequestro esplénico de plaquetas e limitar a trombopoiese medular). A TIM secundária pode ser diagnosticada em qualquer animal, independentemente da espécie, sexo, raça ou idade.

Em seguida vão ser discutidas algumas das etiologias mais frequentes de trombocitopénia em cães e gatos acompanhados durante o estágio, tendo em vista salientar os processos que envolvem a destruição imuno-mediada das plaquetas. Alguns temas são aprofundados com maior detalhe em cães porque são relevantes para a abordagem dos casos clínicos apresentados no final deste trabalho: Trombocitopénia Imuno-mediada Primária, Trombocitopénia Imuno-mediada secundária a infecção (com Anemia Hemolítica Imuno-Mediada e Coagulação Intravascular Disseminada) e Trombocitopénia Secundária a neoplasia (Tumor de Mastócitos).

4.3 – Etiopatogenia e Sinais de TIM primária

É uma anomalia imunológica idiopática em que os anticorpos actuam contra regiões específicas da membrana plaquetária e essas células vão ser precocemente fagocitadas pelo sistema mononuclear fagocitário. Muitas vezes a trombopoiese medular está adequadamente amplificada, até 5 vezes o normal, mas tem uma capacidade limitada (Lewis, 2000b).

A TIM Primária pode ser assintomática ou manifestar-se por sinais clínicos inespecíficos (letargia, anorexia, astenia) (Heseltine, 2008; Thomas, 2008; Couto, 2003). Há autores que referem que só existem sinais clínicos se existir uma anemia significativa associada à trombocitopénia (Thomas, 2008). O diagnóstico faz-se após exclusão das causas de trombocitopénia imuno-mediada secundária e resposta positiva ao tratamento com imunossuppressores.

A TIM primária ou púrpura trombocitopénica idiopática, tal como em medicina humana a equivalente Doença de Werholf (Valenti & Rozman, 1972), tem maior prevalência em fêmeas (de cada 3 animais afectados, 2 são do sexo feminino). Atinge predominantemente cães de meia-idade, sobretudo das raças Caniche, Cocker Spaniel, Pastor Alemão e Old English Sheepdog (Heseltine, 2008; Scott, 2000; Mackin, 1998). No entanto, muitas outras raças e cruzamentos podem desenvolver a doença e admite-se que possa existir predisposição genética ou uma tendência familiar (Heseltine, 2008; Day, 1999) em Cockers, Vizlas húngaros, Scottish terriers e Teckels de pêlo comprido (Lewis, 2000b). Pode ser desencadeada por factores de stress (estro, parto, confinamento, cirurgia e até poluição) (Day, 1998; Mackin, 1998). Em cães, a idade média de diagnóstico são os 6 anos, mas o intervalo varia entre 7 meses e 15 anos (Scott, 2000). Segundo muitos autores a prevalência da TIM primária deve estar subestimada devido à falta de provas de diagnóstico definitivo (Couto, 2003; Scott, 2000; Boudreaux, 1997). A TIM primária já foi reportada em gatos, mas é muito rara (Brooks & Catalfamo, 2005; Mackin, 1998).

4.4 – Etiopatogenia e sinais da TIM secundária

4.4.1 – Agentes Infecciosos

4.4.1.1 – *Babesia spp.* – A babesiose é causada por diferentes espécies e subespécies do género *Babesia* de patogenicidade variável. Transmitem-se a partir de ixodídeos dos géneros *Rhipicephalus* e *Dermacentor* que as inoculam em 2-3 dias com a saliva, e ainda a partir de saliva ou sangue caninos contaminados (transusão, instrumentos, lutas) (Straubinger, 2008; Parnell, Guptil & Solano-Gallego, 2008). Os hemoparasitas, ao fim de 10 a 20 dias, replicam-se

nos eritrócitos sanguíneos provocando uma anemia hemolítica intravascular. Os quadros podem ser hiperagudos, agudos ou subclínicos.

As reacções imuno-mediadas contra o parasita ou contra antigénios do organismo modificados pelo parasita são responsáveis pelos sinais clínicos agudos: febre, hepato-esplenomegália, linfadenopatia e manifestações de hipóxia tecidual. A anemia pode provocar icterícia. Ocorre trombocitopénia mais acentuada na infecção por *Babesia gibsoni*. A hipotensão e a inflamação sistémica resultantes da infecção levam à activação de citoquinas, calicreína, complemento e factores de coagulação. É iniciada a coagulação sistémica que consome plaquetas e predispõe a diátese hemorrágica (Straubinger, 2008; Irwin, 2005; Lapin, 2003; Lewis, 2000a). Alguns cães entram em CID.

4.4.1.2 – *Ehrlichia spp.* e *Anaplasma phagocytophilum* – A *Ehrlichia canis* é uma bactéria gram negativa intracelular veiculada por ixodídeos do género *Rhipicephalus*, 2 a 3 dias após a fixação destes ou através de transfusões de sangue e de instrumentos contaminados com a bactéria. É o agente da Erliquiose Monocítica Canina. A espécie *Anaplasma phagocytophilum* (anteriormente incluída no género *Ehrlichia*, mas aparentemente sem reacção cruzada com a *E. canis*), e a *Ehrlichia ewingii* provocam a Erliquiose Granulocítica Canina, mas o vector é o *Ixodes spp.* e as células alvo são os granulócitos (Solano-Gallego, 2008a; Straubinger, 2008; Greig & Breitschwerdt, 2006; Harrus, Waner, Bjoersdorff & Shaw, 2005; Grindem, 2000).

Um estudo envolvendo cães errantes da área de Setúbal identificou em 1995 uma seroprevalência de erliquioses de 50% (citado por Santos & Miranda, 2006) e um estudo mais recente, mas também com um valor de titulação inferior e noutras populações de cães, diagnosticou 44,6% de cães seropositivos (Figueiredo, comunicação pessoal, Junho 1, 2008).

A infecção pode manter-se subclínica durante dias a anos (havendo apenas hipergamaglobulinémia e hipoalbuminémia ou ligeira trombocitopénia) ou manifestar-se de forma aguda com febre, anorexia, linfadenopatia e outros sinais inespecíficos. Nos casos agudos a erliquiose induz leucopénia e trombocitopénia, por vasculite, 1 a 3 semanas após a exposição.

Na fase aguda a trombocitopénia é o achado mais comum e consistente, notando-se um ligeiro aumento do volume plaquetário (Harrus et al., 2005). Com a progressão da infecção, a demanda de plaquetas é generalizada: consomem-se nas manifestações hemorrágicas, são sequestradas (principalmente no baço) e sofrem destruição imuno-mediada. Por vezes produzem-se anticorpos antiplaquetas PSAIg (Harrus et al., 2005; Neer & Harrus, 2003; Russel & Grindem, 2000). Na infecção por *E. canis* foi demonstrada a diminuição do tempo de semi-vida das plaquetas e o sequestro esplénico (Harrus et al., 2005; Boudreaux, 1997). Recentemente detectou-se uma

citoquina sérica em cães, cuja concentração se correlaciona inversamente com o número de plaquetas/ μL , o PMFI (factor inibidor de migração de plaquetas), produzido pelos linfócitos (Neer & Harrus, 2003). As estirpes mais virulentas de *E. canis* originam níveis mais elevados de PMFI. A trombocitopénia devida a erliquiose e as suas consequências agravam-se ainda mais por efeito da hipoplasia medular dos megacariócitos e por alteração de função das plaquetas remanescentes.

Nos pacientes com infecção crónica, a exacerbação das reacções imunitárias provoca alterações em todos os sistemas orgânicos. É frequente encontrar pancitopénia e eventualmente hemorragias. A trombocitopénia, em grande parte devida a subprodução megacariocítica, por norma é mais severa. A trombopatia concomitante favorece o aparecimento de epistaxis.

Os últimos estudos que focam as alterações hematológicas induzidas pela erliquiose referem trombocitopénia em 94% a 100% dos quadros de erliquiose monocítica (Neer & Harrus, 2003 citando Schmidt et al., 2007 e Sousa et al., 2004) e em 80 % dos quadros de erliquiose granulocítica (Greig et al., 2006). Uma grande percentagem de animais (78%) tem concomitantemente uma anemia, de início regenerativa, mais tarde não regenerativa.

4.4.1.3 – *Anaplasma platys* – Anteriormente do género *Ehrlichia*, é o agente da Trombocitopénia Cíclica Canina, cujo vector não foi confirmado (possivelmente dos géneros *Rhipicephalus* e *Dermacentor*) (Solano-Gallego, 2008a; Simões, 2008). É uma bactéria gram negativa que parasita as plaquetas e ocasiona exclusivamente episódios de trombocitopénia recorrentes (Harrus et al., 2005; Grindem, 2000). Os períodos de parasitémia, acompanhados da diminuição do número de plaquetas (até menos de 20 mil/ μL), sucedem-se mais ou menos a cada 7-14 dias (Harrus et al., 2005; Slauson, 2002). Nas infecções crónicas tende-se a perder o carácter cíclico, com episódios de trombocitopénia ligeira e resolução mais lenta (Solano-Gallego, 2008a; Harvey, 2006).

É considerada uma infecção assintomática uma vez que em áreas de elevada seroprevalência os cães trombocitopénicos estão clinicamente saudáveis. No primeiro mês pós-infecção é possível a detecção de anemia e a diminuição da contagem de leucócitos, sem se chegar a uma verdadeira leucopénia (Harvey, 2006). Há, no entanto relatos de quadros clínicos severos (Solano-Gallego, 2008a; Fry & McGavin, 2007; Harrus et al., 2005) nomeadamente em cachorros, onde a infecção aguda pode produzir anemia, leucopénia e hiperglobulinémia, com linfadenopatia generalizada e hiperplasia linfóide (Brow et al., 2002). Alguns autores consideram que esses quadros não são produto da anaplasiose, mas sim de infecções mistas com outros hemoparasitas, como *Ehrlichia*

spp., *Babesia* spp. e *Rickettsia* spp. (Solano-Gallego, 2008a; Harrus et al., 2005). Segundo estes autores, quando a infecção é experimentalmente induzida, verifica-se um episódio de parasitémia ao fim de 8-15 dias, seguida dum período de trombocitopénia severa. A parasitémia limita-se a cerca de 1% do total de plaquetas. Durante os 3-4 dias seguintes a parasitémia diminui e a população plaquetária é reposta, sem quaisquer outras alterações clínicas, excepto se existir uma anomalia hemostática adicional ou infecção concorrente. Outros autores assumem que possa existir variação geográfica nas estirpes de *A. platys* porque há relatos de países onde as infecções chegam a ser fatais em cachorros (Harrus et al., 2005) e adultos (Harvey, 2006).

A diminuição do tempo de semi-vida das plaquetas resulta inicialmente da destruição directa dessas células pelo parasita (Fry & McGavin, 2007; Boudreaux, 1997). Mais tarde a trombólise é predominantemente imuno-mediada e pode ocorrer também hiperplasia megacariocítica, mas ainda não se confirmou a presença das bactérias nos megacariócitos (Harvey, 2006). No entanto, é possível detectar o antígeno dentro de macrófagos, o sugere que a destruição das plaquetas pode ser devida a fagocitose por estas células (Fry & McGavin, 2007; Harvey, 2006).

4.4.1.4 – *Rickettsia* spp. – As bactérias do género *Rickettsia* identificadas nos animais de companhia em Portugal são a *Rickettsia rickettsii*, a *Rickettsia akari*, a *Rickettsia conorii*, a *Rickettsia slovaca*, a *Rickettsia helvetica* e a *Rickettsia bar29* (esta não é considerada espécie; em medicina humana considera-se apatogénica, mas sua importância é desconhecida em medicina veterinária) (Figueiredo, comunicação pessoal, Junho 1, 2008). Infectam as células endoteliais dos vasos sanguíneos 2 a 12 dias depois da fixação dos vectores do género *Rhipicephalus*. Este grupo de bactérias provoca um quadro clínico de febre súbita, tremores, mialgia, urticária das extremidades e petéquias que posteriormente se disseminam para o tronco. O quadro pode agravar-se com afecção respiratória, convulsões e coma (Greene, 2005; Shaw, 2005; Lappin, 2003; Elwood, 2001; Lewis, 2000a).

A *Rickettsia conorii* provoca a *Mediterranean spotted fever* (MSF) em animais/Febre Botonosa em pessoas. É inoculada pelo *Rhipicephalus sanguineus*, 6 a 26 h após a fixação da carraça, e infecta as células endoteliais originando uma vasculite multissistémica normalmente subclínica (Straubinger, 2008; Greene, 2005). Tradicionalmente considerava-se pouco patogénica, quando comparada com a *Rickettsia rickettsii* (*Rocky Mountain spotted fever*) (Parnel et al., 2008), e apenas quando associada a outros factores imunodepressores, induzia um quadro severo. É uma zoonose de notificação obrigatória em medicina humana e admite-se que a sua virulência tem vindo aumentar, chegando a estar relacionada com quadros fulminantes de sépticémia e Síndrome de Resposta Inflamatória Multissistémica em pessoas (Weinberger et al., 2008;

Sousa & Bacelar, 2004) em vez dos sinais tradicionais de febre, exantema e escara de inoculação. Recentemente foi classificada uma nova subespécie de *R. conorii* (a subespécie *R. conorii israelensis*) que já foi identificada em Portugal (Weinberger et al., 2008).

A trombocitopénia que se desenvolve justifica-se pelo consumo e destruição de plaquetas nos fenómenos de vasculite, perda de sangue e eventuais fenómenos de CID e ainda pela ligeira destruição imuno-mediada (como sugere a presença de anticorpos anti-plaquetas em determinados casos (Boudreaux, 1997)).

A incidência da Febre Botonosa tem decrescido desde a década de 1990, mas as estirpes aparentam ser mais patogénicas tanto para humanos como para animais. No distrito de Setúbal, onde decorreu o meu estágio, no ano 2000 houve uma incidência de 3 casos por cada 10.000 pessoas (Sousa & Bacelar, 2004), mas 85% dos cães são seropositivos (Santos & Miranda, 2006). Considera-se uma doença de risco elevado para a população e futuramente o panorama vai manter-se ou até piorar (Santos & Miranda, 2006).

4.4.1.5 – *Leishmania infantum* – Este protozoário é transmitido pelos mosquitos flebotomos, replica-se nos macrófagos e dissemina-se a todo o organismo induzindo respostas imunitárias maciças e formação de imunocomplexos. Clinicamente há manifestações cutâneas e viscerais muito diversificadas. A trombocitopénia que provoca prende-se com o sequestro, consumo e destruição das plaquetas. Ocorre trombólise imuno-mediada e por vezes CID (Banneth, Day, Roura & Shaw, 2005; Lappin, 2003). Na prática clínica dentro do distrito de Setúbal, as manifestações de hemorragia superficial são sinais clínicos suspeitos de leishmaniose. A frequência e magnitude da trombocitopénia são variáveis, mas pode ser significativa a ponto de contribuir para a elevação do tempo de hemorragia. Num estudo em Itália detectou-se trombocitopénia em apenas 29,3% dos cães testados (Baneth et al., 2005).

Desde 1950 que se assiste à diminuição do número de casos de leishmaniose visceral humana no distrito de Setúbal (4 novos casos no período de 1995-2005) (Santos & Miranda, 2006). Contudo, a região de Lisboa e Setúbal considera-se endémica para cães (seroprevalência superior a 10%) e um estudo de 2006 (Neves, Cardoso, Afonso & Campino, 2007) revelou um conhecimento insuficiente desta doença zoonótica, por parte da população inquirida. Outro estudo, realizado em 1980 no Parque Natural da Arrábida (citado por Santos & Miranda, 2006), estimou a prevalência da doença em 10,9% dos cães e 5,8% das raposas da região. Esses são os principais reservatórios de *Leishmania infantum* MON-1, sendo os vectores o *Phlebotomus perniciosus* e o *Phlebotomus ariasi*, conhecidos pela população como “mosquitos da Arrábida”. Actualmente

considera-se o risco de infecção no nível médio a elevado, mas admite-se que possa tornar-se elevado devido às alterações climáticas.

4.4.1.6 – *Dirofilaria immitis* – O agente da dirofilariose é responsável por vasculite, e consequente consumo e destruição (imuno e não imuno-mediada) de plaquetas (Ferasin & Knight, 2005; Lappin, 2003). Demonstrou-se que o aumento do consumo de plaquetas pode relacionar-se, entre outras causas, com o efeito de imuno-mediação que estas células possuem contra parasitas intravasculares. As plaquetas participam na eliminação dos parasitas por um mecanismo envolvendo IgE (Boudreaux, 1997). Em breve poderá ainda confirmar-se o efeito de mielossupressão.

4.4.1.7 – Outros agentes bacterianos e fúngicos – A trombocitopénia é uma manifestação precoce da maior parte das infecções bacterianas septicémicas (Lappin, 2003). Bactérias como a *Salmonella* spp., *Francisella tularensis* e *Leptospira* spp., e ainda as micoses sistémicas, vão originar lesão vascular que pode evoluir para CID. (Greene, Calpin & Guptill, 2008; Greene & DeBey, 2006; Shaw, 2005; Ramsey, Gunn-Moore & Sahw, 2001). Estas infecções resultam em lise ou remoção acelerada das plaquetas lesadas pelo sistema mononuclear fagocitário. Algumas bactérias que aderem às plaquetas originam verdadeiros PASIg (Thomas, 2008; Russel & Grindem, 2000).

Há bactérias que produzem activadores do plasminogénio semelhantes ao uPA e actuam como activadores exógenos da fibrinólise (estreptoquinase dos estreptococos). Essas enzimas formam um complexo com a plasmina ou o plasminogénio. Com esta associação a bactéria perde a capacidade proteolítica inerente à enzima por si só, mas ganha uma ainda maior capacidade invasiva devido à produção de níveis muito elevados de plasmina (Gentry, 2007).

4.4.1.8 – Agentes virais – Os vírus, tanto as estirpes infecciosas, como as vacinais podem causar trombocitopénia por mecanismos imuno-mediados e não imuno-mediados, chegando inclusivamente a produzir-se auto-anticorpos.

Em cães a trombocitopénia viral ocorre na esgana, herpesvirose, hepatite viral (adenovírus tipo I) e parvovirose. Na generalidade ocorre destruição imuno-mediada, destruição directa e pode ou não acrescentar-se a supressão medular (Thomas, 2008; Lappin, 2003). Quando há hemorragia há perda adicional de plaquetas. Nos gatos, além dos vírus discutidos de seguida, os vírus da panleucopénia e da peritonite infecciosa são também responsáveis pelo aparecimento de trombocitopénia.

O FIV replica-se nas células imunitárias, dissemina-se no organismo e entra em latência. Após um período variável em função do vírus, doutros agentes infecciosos e do hospedeiro, instala-se

a imunodeficiência. O FIV tem efeitos nocivos directos e indirectos, ao favorecer a instalação de agentes oportunistas. As síndromes manifestadas podem envolver qualquer sistema do organismo, inclusivamente com alterações do foro oncológico (Cohn & Langdon, 2008; Lappin, 2003). Há trombocitopenia (6 a 16% dos animais seropositivos assintomáticos), geralmente associada a neutropenia e anemia, decorrentes quer da hipoplasia medular, quer da destruição imuno-mediada.

O FeLV inicia a sua invasão pela orofaringe e dissemina-se pelo organismo até à medula óssea. Alguns gatos combatem a viremia e eliminam a infecção, mas a maior parte adquire uma viremia latente ou sequestrada que mais tarde se torna activa e sintomática. Ocorre uma grande diversidade de síndromes, nomeadamente de carácter neoplásico. A mielossupressão traduz-se na debilitação generalizada das funções hemáticas. Surge imunodeficiência e as subsequentes infecções oportunistas (Cohn & Langdon, 2008; Lappin, 2003). O decréscimo da concentração de plaquetas justifica-se por aplasia medular e destruição imuno-mediada. O teste de Coombs pode ser positivo (Abrams-Ogg, 2006; Day, 1999). O quadro clinicopatológico é inespecífico.

4.4.2 – Vacinação

As vacinas são uma causa contraditória de TIM em veterinária, mas confirmada em humanos (Lewis, 2000a; Russel et al., 2000). Em medicina humana produzem-se anticorpos antiplaquetas circulantes com as vacinas da rubéola e sarampo (Russel et al., 2000). Em medicina veterinária, por um lado julga-se que a vacinação produz uma trombocitopenia ligeira, mais comum com o agente vacinal do que com a própria doença (por exemplo, esgana) (Lewis, 2000a). Por outro lado, observa-se que a trombocitopenia produzida é ocasional, mas significativa, ocorrendo 3 a 10 dias após a vacinação (Thomas, 2008), ou no prazo de 1 a 21 dias (Russel & Grindem, 2000). Julga-se que a trombocitopenia é uma reacção adversa à vacinação, de carácter imuno-mediado (Jarret & Ramsey, 2001). Segundo alguns autores, a trombocitopenia induzida por vacinas não predispõe a hemorragia, excepto se existir outra anomalia concomitante, como a doença de von Willebrand (Thomas, 2008; Lewis, 2000a; Boudreaux, 1997).

A vacinação contra mixo e adenovírus provoca trombocitopenia após 48 horas, podendo prolongar-se durante 1 a 3 semanas, e as vacinas contra herpesvirose e hepatite canina estão na origem de casos de vasculite e CID (Paul, 2003).

4.4.3 - Fármacos

Determinados fármacos ou os seus metabolitos causam trombocitopenia por défice de produção ou por excesso de destruição de plaquetas. O défice de produção deve-se a mielossupressão/displasia (ambiente medular alterado) ou destruição directa ou imuno-mediada

dos megacariócitos (Thomas, 2008; Brow et al., 2002; Day, 1998) e é muito frequente com os estrogénios ou os quimioterápicos (Thomas, 2008; Couto, 2003; Boudreaux, 1997). O excesso de destruição de plaquetas pode ter a ver com um efeito citotóxico directo ou imuno-mediado (eliminação precoce pelo sistema mononuclear fagocitário). Os fármacos podem induzir a activação ou a lesão directa das plaquetas com aumento do consumo/destruição e diminuição do tempo de semi-vida destas células sanguíneas (Thomas, 2008; Day, 1999). A trombólise imuno-mediada deve-se à formação de anticorpos induzida pela substância farmacológica. Estes anticorpos podem ser fármaco-dependentes se só actuam quando o fármaco está em circulação, ou não fármaco-dependentes se funcionam como verdadeiros auto-anticorpos na ausência da molécula/metabolitos do fármaco (Zimmerman, 2000; Boudreaux, 1997). Na prática o mecanismo fármaco-dependente implica a ligação dum complexo (anticorpo + medicamento) às plaquetas e portanto não há destruição das plaquetas quando a molécula farmacológica se esgota. No mecanismo não fármaco-dependente os anticorpos não precisam de estar ligados à molécula farmacológica e como tal podem continuar a mediar a destruição das plaquetas após a interrupção da terapêutica. Qualquer dos mecanismos origina uma trombocitopénia igualmente severa. Geralmente a TIM induzida por medicamentos só aparece semanas ou meses após a instituição do tratamento e não altera o MPV (Witley, 2007; Boudreaux, 1997).

Potencialmente qualquer medicamento pode induzir anticorpos dependentes ou independentes do fármaco (Couto, 2003; Boudreaux, 1997) e um autor refere que a reacção pode ser previsível e/ou dose-dependente ou totalmente idiossincrática (Thomas, 2008). A maioria dos compostos enumerados em seguida pode cumulativamente causar anemia e neutropénia: acetaminofeno, anti-arrítmicos, anti-convulsionantes, citosina-arabinósido, auranofina (sais de ouro), azatioprina, azul de metileno, benzocaína, barbitúricos, carprofeno, cefalosporinas, cimetidina, cisplatina, ciclofosfamida, cloranfenicol, dapsona, doxorubicina, estrogénios, fenilbutazona, fenotiazínicos, griseofulvina e outros fungicidas/ fungistáticos, estrogénios, levamisol, metimazole, metionina, metronidazol, penicilinas e propilenoglicol, propiltiouracilo, 5-fluorouracilo, hidroxiureia, lomustina, melphalan, quinina e quinidina, sulfas e derivados, sulfato de protamina, tiacetarsamina, vitamina K e zinco (Thomas, 2008; Couto, 2003; Lewis, 2000b; Grindem, 2000; Day, 1998; Boudreaux, 1997; Ogilvie & Moor, 1995). Além dos quimioterápicos referidos, devem salientar-se outros compostos usados frequentemente em planos de quimioterapia: os corticosteróides, a vincristina e a bleomicina são os fármacos menos implicados em TIM induzida por medicamentos. Os mielossuppressores produzem uma trombocitopénia mais

grave, sendo a ciclofosfamida o mielossupressor com menos efeito negativo sobre a contagem de plaquetas (Ogilvie & Moor, 1995).

A biópsia medular pode revelar hipocelularidade de megacariócitos quando se fez um tratamento mielossupressivo ou normo/hipercelularidade de megacariócitos quando se fez um tratamento com outro tipo de fármacos, nomeadamente com os medicamentos que apenas causam destruição extramedular ou consumo de plaquetas (Thomas, 2008; Day, 1999). Quando decorrem terapêuticas médicas com os fármacos referidos, na presença de trombocitopénia as administrações devem, se possível, ser interrompidas. A contagem de plaquetas é repetida dois a seis dias depois da interrupção para concluir se a trombocitopénia é induzida pelo medicamento. Este efeito de normalização confirma o diagnóstico de trombocitopénia secundária a um medicamento (Thomas, 2008). Geralmente a trombocitopénia desaparece ao fim de duas semanas de interrupção da medicação e só recidiva se o fármaco voltar a ser administrado (Couto, 2003; Boudreaux, 1997; Handin, 1992). A fenitoína e os sais de ouro induzem uma trombocitopénia mais prolongada porque a sua semivida é mais longa (Handin, 1992). Se a contagem de plaquetas for inferior a 20 mil/ μ L recomenda-se terapêutica de suporte, nomeadamente transfusão de sangue e tratamento imunossupressor. Quando a trombocitopénia não se resolve apenas com a suspensão do fármaco implicado, um dos autores recomenda a instituição de imunossupressão farmacológica (Thomas, 2008). Se mesmo assim a trombocitopénia não regredir o prognóstico deve ser encarado como desfavorável. A contagem de plaquetas deve ser monitorizada diariamente ou a cada 2 dias até ultrapassar 50.000/ μ L e daí em diante o controlo deve ser semanal.

Foi demonstrada em cães uma pseudotrombocitopénia EDTA-dependente que não sendo fármaco-dependente *in vivo*, origina um falso decréscimo da contagem de plaquetas (Gentry, 2007; Boudreaux, 1997). O soro de determinados animais contém anticorpos para antígenos plaquetários que nunca são expostos à superfície das células, excepto quando o sangue é tratado com EDTA. Esta pseudotrombocitopénia não é acompanhada por diátese hemorrágica. A heparina pode ter o mesmo efeito *in vivo* quando é usada como anticoagulante, embora até ao momento o fenómeno só tenha sido confirmado em humanos e cavalos, nos quais o factor 4 das plaquetas se torna antigénico (Gentry, 2007; Valenti & Rozman, 1972).

4.4.4 - Transfusões

As transfusões de produtos sanguíneos incompatíveis, entre outras consequências, provocam uma trombocitopénia severa, devido ao elevado título de alo-anticorpos (Thomas, 2008; Day,

1998). Os alo-anticorpos medeiam não só a destruição das alo-plaquetas, como também a das autólogas. Por esse motivo é tão fugaz o benefício das transfusões com vista a repor a contagem de trombócitos (Abrams-Ogg, 2006; Couto, 2003). A origem dos alo-anticorpos antiplaquetas não está totalmente esclarecida. O aparecimento espontâneo parece relacionar-se com a adsorção de antígenos solúveis nas plaquetas autólogas (Scott, 2000) ou com a reacção de anticorpos contra a integrina plaquetária $\alpha_{IIb}\beta_3$ (Gentry, 2007; Boudreaux 1997). Os polimorfismos nos genes que codificam as subunidades da integrina resultam na modificação dessas subunidades podendo torná-las imunogénicas. Sabe-se que em cães podem surgir poucas horas após a transfusão incompatível de sangue DEA-1 ou de plasma contendo já alo-anticorpos DEA-1, mas também se resolve em poucas horas, através do sequestro e da imunoaderência dos trombócitos a eritrócitos revestidos por anticorpos (Scott, 2000).

4.4.5 – Sequestro esplénico

O sequestro esplénico de plaquetas corresponde ao aumento da reserva celular no baço. Em circunstâncias normais, 30 a 40% das plaquetas encontram-se neste órgão; nos sequestros podem chegar a 90% (Fry & Mc Gavin, 2007; Russel & Grindem, 2000). O hiperesplenismo primário é raro nos animais. Mais frequente é o hiperesplenismo secundário: a torção do baço (por exemplo associada à torção de estômago), a esplenomegália (relacionada com infecções, hiperplasia, neoplasia) e a hipotermia (trombocitopenia ligeira e passageira) (Couto, 2003; Russel & Grindem, 2000).

4.4.6 – Púrpura trombocitopénica trombótica e Síndrome urémico-hemolítica

Estas entidades clínicas são por vezes consideradas duas expressões do mesmo processo patológico (Brow et al., 2002; Scott, 2000). Os cães Galgos são uma raça sobre-representada na síndrome urémico-hemolítica. A afecção é conhecida como vasculopatia cutânea e renal do *Grey Hound* (Lewis, 2000b) e caracteriza-se por hiperagregabilidade plaquetária, com formação de trombos intravasculares. Além de trombocitopenia, o fenómeno provoca anemia hemolítica microangiopática. O quadro correspondente a esse fenómeno depende dos sistemas orgânicos afectados: sinais neurológicos, renais ou cutâneos e possivelmente febre.

4.4.7 – Anemia Hemolítica Imuno-Mediada

A AHIM corresponde a uma reacção de hipersensibilidade de tipo II em que IgG, IgM e IgA se ligam directa ou indirectamente a componentes de membrana dos eritrócitos. A anemia pode dever-se a hemólise extravascular ou intravascular (Balch & Mackin, 2007; Aster, 2005; Day, 1999). A destruição extravascular é mediada principalmente por IgG (Balch & Mackin, 2007;

Giger, 2005) seguida de fagocitose pelo sistema mononuclear do fígado, baço e medula. Os eritrócitos ficam revestidos por imunoglobulinas sofrendo uma hemólise precoce pelo sistema mononuclear fagocitário. Uma consequência muito frequente é a formação de esferócitos. Por vezes os anticorpos são dirigidos contra os precursores medulares e impedem a regeneração. A maior parte das imunoglobulinas em causa encontra-se ligada às células, logo a parte livre circulante que pode ser detectada nos testes imunológicos é normalmente baixa (Scott, 2000; Durr et al., 2000; Day, 1999).

A destruição intravascular pode ser mediada por imunoglobulinas (sobretudo IgM) (Balch & Mackin, 2007) e/ou complexos imunes ou por acção directa de microorganismos, xenobióticos, toxinas endógenas, neoplasias, alterações vasculares, anomalias metabólicas, etc. (Abrams-Ogg & Mathews, 2006; Couto, 2003; Ramsey et al., 2001; Day, 1999). Segundo Balch e Mackin (2007) há poucas evidências de que os fármacos sejam responsáveis pela hemólise imuno-mediada.

A AHIM pode ser primária (idiopática) ou secundária (a hemoparasitas como *Babesia spp.* ou *Mycoplasma spp.*, a antibióticos e outros medicamentos, a vacinas virais atenuadas, a neoplasias, a diabetes cetoacidótica, a hipofosfatémia). É rara em gatos, surgindo normalmente por hemoparasitoses (Couto, 2003; Day, 1999). Em cães é muito frequente, na maior parte dos casos sem causa subjacente e em fêmeas jovens ou de meia-idade (Balch & Mackin, 2007; Fry & McGavin, 2007; Couto, 2003). Nesta forma primária produzem-se auto-anticorpos, muitas vezes contra a glicoforina da membrana dos eritrócitos. Possivelmente, à semelhança do que foi confirmado em humanos e ratos, a função reguladora de células T supressoras está deprimida, e assim não é prevenida a reacção imunitária contra as células do próprio organismo (Balch & Mackin, 2007). Cerca de um quarto dos animais que desenvolvem AHIM após vacinação, manifestam anemia nos 30 dias seguintes à administração da vacina (Balch & Mackin, 2007; Day, 1999). A vacinação pode funcionar como um estímulo inespecífico que activa os macrófagos, favorece uma condição inflamatória de baixo grau ou desregula o equilíbrio do sistema imunitário. Alguns autores referem uma incidência sazonal desta afecção imuno-mediada, na Primavera/Verão, mas o maior número de casos verificados nesta altura parece explicar-se pela exacerbação duma infecção até então não diagnosticada. (Balch & Mackin, 2007). Certas raças de cães (Cocker e Springer Spaniel, Caniche, Setter irlandês, Old English sheepdog e Collie) estão predispostas ao desenvolvimento da AHIM (Balch & Mackin, 2007; Fry & McGavin, 2007; Day, 1999). Quando se suspeita de AHIM idiopática devem pesquisar-se

evidências doutras anomalias imuno-mediadas (glomerulonefrite, poliarterite, dermatite, vasculite, trombocitopénia imuno-mediada) (Abrams-Ogg & Mathews, 2006; Couto, 2003).

4.4.8 – Lúpus Eritematoso Sistémico

A trombocitopénia imuno-mediada pode estar associada a Lúpus Eritematoso Sistémico, uma doença imuno-mediada multissistémica, de carácter crónico e de etiologia desconhecida (eventualmente genética ou infecciosa). A reacção imunitária contra os próprios tecidos leva a que os sintomas manifestados envolvam quase todos departamentos orgânicos: cardiovascular, renal, hepático, neurológico, artro-muscular e dérmico (Miller, 2008; Couto, 2003).

4.4.9 – Coagulação Intravascular disseminada

As coagulopatias de consumo, localizadas ou disseminadas, resultam na diminuição da concentração dos factores hemostáticos. A coagulação intravascular localizada pode ocorrer por activação da coagulação num só órgão ou tecido (Scott & Matthew, 2008). A CID é sempre secundária a uma condição que causa excesso ou desequilíbrio de activação do sistema de coagulação intravascular (Scott & Matthew, 2008; Gentry, 2007; Scott, 2000). Como tal a CID é o curso comum de uma diversidade de afecções, sendo secundária a processos de lesão vascular, septicémia e libertação de endotoxinas bacterianas, libertação de tromboplastina tecidular a partir de tecido necrosado ou maligno ou libertação de outras proteínas pró-coagulantes. Em medicina humana cerca de 65% dos casos são secundários a infecção.

Em cães a CID é secundária a neoplasia (causa principal), doença hepática e doenças imuno-mediadas e infecciosas, mas também pode ocorrer por intoxicação por raticidas, dilatação/torção gástrica, pancreatite, endotoxémia/sépticémia, traumatismos, queimaduras e outras situações (hipo/hipertemia, complicações obstétricas, etc.) (Scott & Matthew, 2008; Fry & McGavin, 2007; Couto, 2003; Mackin, 1998). Segundo um estudo citado por Couto (2003), em gatos a doença hepática é a principal responsável por CID, seguida de neoplasia, doenças infecciosas e outras causas (de realçar a administração de metimazole). As doenças imuno-mediadas, a pancreatite e os raticidas não foram implicados em nenhum caso felino no estudo em causa. Os gatos frequentemente não apresentam CID sintomática (Dufort & Matros, 2005; Couto, 2003); a afecção é diagnosticada com o perfil hemostático laboratorial.

A CID é caracterizada por fenómenos de coagulação generalizada que produzem trombose microscópica multissistémica e, paradoxalmente, hemorragia, devido ao excessivo consumo/destruição de plaquetas e factores de coagulação por fibrinólise. A patogénese da CID é favorecida por 3 mecanismos básicos: lesão endotelial, activação plaquetária e libertação de pró-coagulantes tecidulares. A lesão endotelial pode ser secundária a sépsis, hemoparasitas,

electrocussão, choque térmico, falha cardíaca, neoplasia, pancreatite, traumatismo, AIHM e outras doenças imuno-mediadas que originem vasculite ou contribuam para um fluxo sanguíneo anormal (Abrams-Ogg, 2006; Couto, 2003; Ware, 2003). A activação plaquetária é estimulada por muitos mecanismos, entre os quais efeitos de microorganismos e neoplasias. Os pró-coagulantes tecidulares são libertados em situações de trauma, hemólise imuno-mediada, infecções, neoplasias, pancreatite, acidose, hipóxia, doença hepática e síndrome de Cushing. Estes mecanismos, envolvendo todas as fases da hemostase (celular, vascular e humoral) podem actuar em simultâneo e conduzir a uma sucessão de eventos pró e anti-coagulantes. Os fenómenos a seguir descritos são dinâmicos e variam em intensidade ao longo do episódio de CID:

- formam-se tampões primários e secundários em vários capilares originando múltiplos trombos na microcirculação. O consumo exagerado de plaquetas provoca trombocitopenia e consumo dos factores de coagulação. A evolução do processo conduz a isquemia e insuficiência orgânica multissistémica;
- em simultâneo é activado o sistema fibrinolítico que lisa os coágulos e inactiva as plaquetas e os factores de coagulação. Consomem-se até à exaustão a AT e as proteínas C e S;
- as teias de fibrina na microcirculação causam a fragmentação dos eritrócitos e consequentemente ocorre anemia hemolítica intravascular (fragmentação microangiopática).

A má perfusão tecidular promove o aparecimento de promotores secundários de CID: hipóxia, acidose, disfunção orgânica (hepática, renal e pulmonar) e libertação do factor depressor do miocárdio, e como tal o fenómeno é retroalimentado. Uma vez que o sistema mononuclear fagocitário é igualmente prejudicado, fica inibido o processamento dos subprodutos da fibrinólise e dos microorganismos provenientes do tubo digestivo.

4.4.10 - Neoplasias

As neoplasias podem inviabilizar a hemostase a vários níveis: disfunção plaquetária (quantitativa ou qualitativa), trombocitose ou CID (Bergman, 2007; Morrison, 1998; Fox, 1995). A trombocitopenia é a alteração hemostática mais comum associado a tumores no homem e no cão, surgindo em 40% dos processos neoplásicos (Bergman, 2007). Os estudos que avaliaram a ocorrência de trombocitopenia em cães com neoplasias, determinaram uma incidência até 36% de situações trombocitopénicas antes do início de qualquer programa de quimioterapia (Morrison, 2002), sendo que ocorre com mais frequência nos tumores linfoproliferativos (58%).

A trombocitopénia considera-se um sinal de síndrome paraneoplásica, podendo manifestar-se semanas ou anos antes da detecção clínica do tumor (Morrison, 1998). Sabe-se que as neoplasias podem induzir trombocitopénia por mecanismos imuno-mediados (antígenos tumorais ligados à membrana das plaquetas favorecem a trombólise) e não imuno-mediados (sequestro e outras alterações de distribuição, hemorragia secundária, mielofitose, mielodisplasia e supressão medular pós quimio ou radioterapia) (Morris & Dobson, 2002; Morrison, 1998; Fox, 1995).

As neoplasias mais implicadas na trombocitopénia do cão são o hemangiossarcoma, os tumores linfoproliferativos e os sertolinomas secretores de estrogénios (Morrison, 2002; Morris & Dobson, 2002). Estimou-se que nos processos de hemangiossarcoma até 90% dos cães manifesta trombocitopénia em alguma fase (Fox, 2002). Nos gatos acrescentam-se ainda os tumores secretores de Ig e o plasmocitoma extramedular (Morrison, 2002). As neoplasias mielo/linfoproliferativas, os carcinomas da tiróide e os carcinomas inflamatórios podem ainda criar a síndrome de hiperviscosidade que conduz a CID. Há relatos de resolução da trombocitopénia após a remissão da neoplasia (Heseltine, 2008) e confirmou-se a correlação positiva entre o diagnóstico de linfossarcoma e o diagnóstico de TIM em cães (Boudreaux, 1997).

As síndromes paraneoplásicas que afectam a coagulação, como a CID, as disfunções plaquetária, podem ser a razão da diminuição do número de plaquetas circulantes. A CID secundária a coagulopatias neoplásicas pode representar até 40% das etiologias de CID, e manifesta-se em 10% dos cães com tumores malignos, nomeadamente hemangiossarcoma, carcinoma da tiróide, tumor de mastócitos e outras neoplasias inflamatórias (Morrison, 2002; Fox, 1995). Nos tumores de mastócitos em particular, a trombocitopénia é secundária aos fenómenos hemorrágicos ou, tal como a anemia, pode resultar de mielofitose.

Foi sugerido que as plaquetas pudessem ter responsabilidade na evolução e metastização das neoplasias por promoverem a sobrevivência, angiogénese e amplificação do extravasamento de células neoplásicas (fenómenos mediados pela agregação plaquetária) (Bergman, 2007). Um estudo que comparou cães com cancro e cães saudáveis, concluiu que as plaquetas nos animais com neoplasia exibem maior resposta secretora de ATP, maior capacidade de agregação e menor intervalo de tempo para sofrer agregação. Além de favorecer a metastização, a hiperagregabilidade plaquetária pode conduzir a tromboembolismo.

5 – DIAGNÓSTICO DA CAUSA DE TIM

O animal trombocitopénico é um animal de risco portanto devem minimizar-se os procedimentos e as contenções traumáticas. A abordagem deve começar pela história e pelos exames menos agressivos.

É importante reconhecer a gravidade do processo e estabilizar o animal antes de avançar com outros meios de diagnóstico e é também essencial que se recolham as amostras de sangue e soro para os meios específicos antes de administrar qualquer medicação. O sangue deve ser imediatamente transferido para os meios adequados às análises e estas devem efectuar-se com maior brevidade possível. Determinadas amostras podem conservar-se sem prejuízo (análises para agentes infecciosos), outras vão perdendo o seu valor de diagnóstico com o passar do tempo (provas de coagulação).

Esta abordagem de diagnóstico às causas de TIM parte do pressuposto que a trombocitopénia foi identificada com a realização dos testes iniciais para casos de hemorragia referidos em 3.1 ou através duma contagem de plaquetas automatizada. O analisador automático realiza uma contagem celular mais rápida, mas menos fiável nas situações de anisocitose ou agregação plaquetária. É capaz de avaliar igualmente outros parâmetros que caracterizam as plaquetas (MPV e PDW). No entanto, não avalia nem a morfologia nem a constituição dessas células.

5.1 – Caracterização do animal

A idade do animal deve ser considerada para ajudar a diferenciar anomalias congénitas de anomalias adquiridas. A raça e o sexo são igualmente indicadores da maior predisposição para determinadas anomalias. Verifica-se que metade dos cães de raça Cavalier King Charles Spaniel apresenta uma trombocitopénia autossómica recessiva grave (até 20 mil/ μ L segundo Fry & McGavin, 2007 ou até 100 mil/ μ L segundo Thommas, 2008 (citando Cowan et al., 2004) e Brooks & Catalfamo, 2005) associada a macroplaquetas, mas não manifestam hemorragias clínicas (Heseltine, 2008). Cenário semelhante ocorre em cães saudáveis das raças Galgo, com uma média de 150 mil plaquetas/ μ L segundo Brooks & Catalfamo (2005) e Lewis (2000a), e em cães saudáveis da raça Shiba Inu (Lewis, 2000a). Estes animais são assintomáticos e não requerem tratamento (Thomas, 2008).

5.2 – Anamnese

A anamnese deve apurar se já houve algum episódio anterior de hemorragia excessiva ou espontânea e, em caso afirmativo, é vantajoso determinar em que idade surgiu esse episódio e se

afectou algum outro animal da mesma ninhada. Muitas vezes não se dispõe desta informação, mas ela é de grande utilidade para orientar o diagnóstico entre disfunções congénitas ou hereditárias e disfunções adquiridas, bem como para identificar causas não imunes de perda de plaquetas (Heseltine, 2008; Abrams-Ogg, 2006; Couto, 2003; Grindem, 2000). Deve consultar-se a história vacinal do animal para identificar a administração recente duma vacina viral atenuada (pode originar trombocitopénia, disfunção plaquetária ou ambas) ou uma recente transfusão de produtos sanguíneos. O médico veterinário deve informar-se acerca da profilaxia anti-parasitária que é aplicada, determinar quais os perigos infecciosos e parasitários da zona de residência do animal e das regiões para onde ele possa ter viajado, avaliar o estado vacinal, as vacinas administradas e as limitações de eficácia de determinadas vacinas (Heseltine, 2008; Jarret & Ramsey, 2001; Grindem, 2000), explorar a possibilidade de exposição intencional ou accidental a algum dos fármacos que induzem trombocitopénia e a raticidas e outros tóxicos que possam criar condições de consumo ou destruição exagerada de plaquetas ou antagonizar a vitamina K (Heseltine, 2008; Abrams-Ogg, 2006; Couto, 2003).

5.3 – Exame físico

O exame físico deve ser sempre completo, incluindo o exame oftálmico, para identificar e caracterizar o tipo de hemorragias que possam existir (Heseltine, 2008, Abrams-Ogg, 2006; Grindem, 2000). Tanto na TIM primária como na secundária pode ocorrer hemorragia grave ou exagerada face a uma lesão ligeira ou inclusivamente sangramento espontâneo. O tipo de hemorragia causado por trombocitopénia é o característico das alterações hemostáticas primárias (hemorragia superficial). Nos gatos o quadro hemorrágico é menos grave que nos cães, não se encontrando hemorragia espontânea ou excessiva a não ser no decurso dum traumatismo, venipunção ou parto. Ocasionalmente a perda de sangue não é apenas superficial, ocorrendo também para outros compartimentos orgânicos. Quando assim é, podem surgir manifestações clínicas de patologia do aparelho respiratório, aparelho digestivo ou sistema nervoso (por exemplo, cegueira devida a hemorragia da retina) (Heseltine, 2008).

Através do exame físico devem procurar-se os sinais clínicos compatíveis com as eventuais causas da trombocitopénia: febre, palidez das mucosas, organomegália, nódulos, sangue nas fezes, etc. Na TIM primária os sinais e sintomas mais frequentes são inespecíficos (letargia, anorexia, astenia), mas por vezes nem há sinal algum e a doença é um achado laboratorial (Thomas, 2008; Heseltine, 2008; Couto, 2003; Day, 1999). Na TIM secundária as manifestações são as características da causa primária: anorexia, febre e letargia num cão com erliquiose ou

prostração e dispneia num gato com FIV. A sintomatologia pode ser progressiva (por exemplo, uma neoplasia) ou ser aguda (por exemplo, uma hemorragia significativa que desencadeia um colapso) (Thomas, 2008; Dufort & Matros, 2005; Couto, 2003).

Independentemente dos sinais de apresentação, a trombocitopénia imuno-mediada é potencialmente fatal e deve valorizar-se não em função da gravidade dos sinais, mas sim da magnitude da trombocitopénia (Heseltine, 2008; Grindem, 2000; Day, 1999). Segundo estes autores, a principal causa de morte natural nos animais com TIM primária é uma hemorragia gastro-intestinal severa.

Vão ser agora referidas com maior detalhe as alterações ao exame físico manifestadas nas situações patológicas apresentadas nos casos clínicos discutidos no final deste trabalho.

5.3.1 – Alterações associadas a AHIM: Clinicamente a AHIM pode ser aguda ou subaguda, com astenia, intolerância ao exercício, alteração da cor das mucosas (palidez ou icterícia) e ocasionalmente sinais gastro-intestinais. Quando há concomitantemente trombocitopénia imuno-mediada surgem petéquias e equimoses. Quando existe icterícia no momento da apresentação, o estado clínico agrava-se em poucas horas pelo aparecimento de tromboembolismo e CID, implicando um maneio terapêutico mais agressivo (Balch & Mackin, 2007; Abrams-Ogg & Matthew, 2006; Giger, 2005; Couto, 2003; Miller, 2000).

5.3.2 – Alterações associadas a CID: Clinicamente podem diferenciar-se 2 aspectos clínicos de CID: crónico/silencioso) e agudo/fulminante. O quadro silencioso corresponde à ausência de hemorragia espontânea, na presença de alterações hemostáticas. Os sinais predominantes dependem da doença primária subjacente, com frequência de carácter crónico ou neoplásico. O quadro agudo pode sê-lo em sentido estrito ou corresponder a uma agudização súbita dum processo crónico. A apresentação aguda é rara em gatos, mas em cães manifesta-se por hemorragias espontâneas profusas (de tipo primário e secundário), anemia, insuficiência hepato-renal e colapso circulatório (Harnett & Kerl, 2007; Abrams-Ogg, 2006; Couto, 2003).

5.3.3 – Alterações associadas a tumores de mastócitos: O tumor de mastócitos ou mastocitoma é uma das neoplasias cutâneas e subcutâneas mais comum nos cães (16 a 21%), (Lemarie, 2008; Thamm & Vail, 2001; Vandis & Knoll, 2007) embora possa ser diagnosticado sem que haja envolvimento cutâneo (Vandis & Knoll, 2007; Ogilvie & Moor, 1995).

O tumor de mastócitos é referido com mais frequência em animais de idade média ou avançada e pode estar relacionado com locais de traumatismo ou inflamação crónica. Contudo, já foi diagnosticado num cachorro da raça *Jack Russel Terrier* com 3 semanas de idade (Thamm & Vail, 2007). Os mesmos autores consideram que a prevalência é superior em cruzados e não nas

raças consideradas predispostas pela maior parte dos outros autores (*Boxer, Boston/Bull/Stafforshire/Fox Terrier, Bullmastif, Beagle, Labrador e Golden Retriever, Leão da Rodésia, Pug, Schnauzer, Shar Pei e Weinmaraner*) (Lemarie, 2008; Dobson & Scace, 2007; Couto, 2003; Morris & Dobson, 2002; Morrison, 2002). Nos *terriers* questiona-se se a maior prevalência se relaciona com um ancestral comum (Dobson & Scace, 2007). Está por provar a possibilidade de que tenha origem viral, uma vez que os mastocitomas podem ser experimentalmente transmitidos para um animal saudável administrando extractos da neoplasia (Ogilvie & Moor, 1995). Contudo esse extracto não está livre de fracções celulares e não foram identificadas as potenciais partículas virais, sendo necessárias novas evidências (Thamm & Vail, 2007). Avalia-se a influência genética e da imunodeficiência como factores predisponentes ao mastocitoma (Vandis & Knoll, 2007; Bergman, 2007).

Os tumores de mastócitos surgem principalmente no tronco e membros posteriores, ocasionalmente nas extremidades. (Lemarie, 2008; Couto, 2003; Ogilvie & Moor, 1995). Podem ser aderentes à pele ou ao tecido subcutâneo e têm uma conformação muito variável: assemelham-se a lesões dérmicas, a lipomas, a abscessos, etc. A aparência quase inequívoca é dermo-epidérmica, arredondada, alopecica e eritematosa, que pode ulcerar, mas o diagnóstico definitivo é necessariamente histopatológico (Vandis & Knoll, 2007; Couto, 2003; Fox, 2002). Geralmente a lesão é solitária, mas há mastocitomas multifocais em cerca de 10-14% dos animais (Thamm & Vail, 2007; Ogilvie & Moor, 1995). Podem metastizar nos linfonodos regionais, no baço, no fígado e na medula óssea. Um estudo identificou envolvimento dos linfonodos em 76% dos casos de mastocitoma (Fox, 2002) e outro estudo mais recente diagnosticou uma taxa de metastização global, avaliada por necrópsia e como tal incluindo apenas a população de pior prognóstico, de 96% (Thamm & Vail, 2007). Os valores mais razoáveis devem situar-se entre 10% (tumores bem diferenciados) e 96% (tumores indiferenciados). Raramente ocorre disseminação sistémica na ausência duma lesão cutânea (Thamm & Vail, 2007; Fox, 2002).

Os mastocitomas têm origem nos mastócitos, células com importante actividade vasotónica pelo seu arsenal bioquímico (histamina, citoquinas, heparina e outros mediadores inflamatórios). As manifestações decorrentes destas propriedades incluem edema, eritema e fragilidade na região da neoformação (Irizarry-Rovira, 2008; Dobson & Scace, 2007; DeNicola & Reagan, 2002). Estes mediadores são ainda responsáveis pelas síndromes paraneoplásicas. A histamina é responsável por ulceração e hemorragia gastrointestinal e a hiperheparinémia pode provocar alterações de hemostase após procedimentos cirúrgicos (Irizarry-Rovira, 2008; Thamm & Vail, 2007; Couto,

2003; Fox, 2002) Quando o mastocitoma tem a aparência típica pode apresentar o sinal de *Darier*: a compressão ou manipulação da massa produz em pouco tempo eritema e inflamação. Os proprietários podem referir que a massa sofre uma importante variação de tamanho ao longo do dia (Vandis & Knoll, 2008; Dobson & Scace, 2007; Couto, 2003; Morris & Dobson, 2002; Ogilvie & Moor, 1995). Ambos os fenómenos se relacionam com a desgranulação dos mastócitos quando a neoplasia é manipulada. As reacções anafiláticas por desgranulação maciça dos mastócitos foram descritas raramente (Lemarie, 2008; Dobson & Scace, 2007).

Certos tumores de mastócitos permanecem meses a anos até começarem a disseminar-se por via sanguínea ou linfática; outros apresentam-se invasivos desde o início. Alguns mastocitomas apresentam uma neoformação principal e nódulos satélite em redor, correspondentes à disseminação linfática (Morris & Dobson, 2002). A invasão local ao subcutâneo e músculo ocorre mais frequentemente com tumores de crescimento rápido. A maioria dos cães com mastocitoma cutâneo não tem sinais sistémicos (gastro-intestinais, cardiopulmonares, síndromes paraneoplásicas) e mesmo a disseminação neoplásica só origina sinais sistémicos em metade dos animais (Bergman, 2007). Contudo, se à apresentação são evidentes os sinais gastro-intestinais, é expectável que 40% dos animais não resistam mais de 1 mês e que apenas menos de 10% sobreviva 5 meses adicionais (Thamm & Vail, 2007).

Ocasionalmente as síndromes paraneoplásicas dos tumores de mastócitos afectam o sistema nervoso, em maior escala o sistema nervoso periférico (Bergman, 2007; DeNicola & Reagan, 2002; Morrison, 1998). Cerca de 32% dos mastocitomas estão implicados em anomalias de nervos periféricos, com desmielinização, remielinização e degeneração, caracterizados por lesões de motoneurónio inferior: reflexos diminuídos ou ausentes, parésia, tónus muscular diminuído, paralisia dos músculos cefálicos ou apendiculares e, em 1 a 2 semanas, atrofia muscular neurogénica.

5.4 – Hemograma e esfregaço

Antes de mais há que ter em conta que quando se utiliza EDTA como anticoagulante, as plaquetas ficam com um MPV artificialmente elevado. Não se espera portanto encontrar sempre um MPV menor que 5,5 fL nas TIM, quer se visualize as células no esfregaço, quer se faça a determinação automatizada num aparelho. Ainda assim pode notar-se um volume plaquetário diminuído e/ou heterogéneo (anisocitose plaquetária/ PDW aumentado).

A magnitude da trombocitopénia pode ser indicativa do processo subjacente (Quadro 4) (Brow et al., 2002). Normalmente as causas imuno-mediadas deprimem mais a população plaquetária que as causas não imuno-mediadas (Heseltine, 2008; Couto, 2003; Scott, 2000; Boudreaux, 1997).

Contagens inferiores a 25 mil/ μ L são comuns em cães com TIM primária. Contagens de 50 mil a 75 mil plaquetas/ μ L são compatíveis com processos infecciosos, hiperesplenismo e intoxicação por raticidas antagonistas da vitamina K (Couto, 2003).

Quadro 4 – Valores indicativos da magnitude da trombocitopénia manifestada em cães, em situações clínicas acompanhadas por esta alteração hematológica. Adaptado de Brow et al. (2002).

<i>Magnitude da trombocitopénia em cães: valores indicativos (plaq/μL – etiopatogenia)</i>	
5.000 induzida por estrogénios	47.000 hemangiossarcoma
6.000 erliquiose	64.000 agudização de hepatopatia crónica
7.000 idiopática	102.000 linfossarcoma
10.000 coagulopatia de consumo	131.000 síndrome de Addison
21.000 leucemia mielóide	170.000 síndrome de Evans
40.000 esplenomegália	

A macrotrombocitose manifesta-se nos casos de infecção por retrovírus e nos processos que consomem ou destroem exageradamente as plaquetas (Couto, 2003; Meyer et al., 1992). O volume plaquetário médio costuma diminuir na fase aguda de destruição imuno-mediada (Scott, 2000).

A realização do hemograma e/ou esfregaço tem como objectivo adicional notar se há desequilíbrio de outras linhas celulares ou se há exclusivamente trombocitopénia, para se diferenciar as situações de défice de produção das situações de excesso de destruição/utilização destas células sanguíneas. Com essa distinção restringe-se o número de etiologias de trombocitopénia. No LES podem encontrar-se anemia hemolítica, neutropénia e trombocitopénia, todas de carácter imuno-mediado. Cerca de 20 % dos cães com TIM desenvolve também AHIM (Heseltine, 2008) e cerca de 50-70% dos cães com AHIM acaba por manifestar TIM (Balch & Mackin, 2007). É recomendável confirmar a presença de esférocitos ou auto-aglutinação no esfregaço e verificar a presença de esquizócitos (compatível com síndrome de *Evans*, CID ou hemangiossarcoma do baço) (Heseltine, 2008). As anemias hemolíticas não regenerativas são comuns nas infecções por agentes parasitários/infecciosos caninos e felinos. As inflamações crónicas (bacterianas ou imuno-mediadas idiopáticas), podem provocar uma anemia não

regenerativa com sequestro de ferro. Além da quantidade de eritrócitos, a morfologia das células pode sugerir a patogênese da anemia (esquizócitos na CID e na vasculite). Um leucograma inflamatório (neutrofilia ou neutropenia, com desvio à esquerda ou alteração tóxica) indica inflamação com aumento de utilização/destruição das plaquetas. A leucopenia, sem desvio à esquerda, eventualmente com anemia não regenerativa, está geralmente associada a trombocitopenia por mielossupressão, possível em infecções por vírus felinos ou erliquiose canina.

A seguir descrevem-se as alterações hematológicas em situações de trombocitopenia específicas, já que devem ser tidas em conta na discussão dos casos clínicos apresentados no final deste trabalho.

5.4.1 – Alterações hematológicas nos animais com TIM primária: A trombocitopenia é geralmente acentuada (Thomas, 2008; Heseltine, 2008; Couto, 2003; Slauson, 2002; Lewis, 2000b). Pode encontrar-se anemia no caso de existir síndrome Evans ou hemorragia clínica concorrente (Thomas, 2008; Scott, 2000; Lewis, 2000b; Boudreaux, 1997). A concentração de leucócitos está normal ou aumentada, correspondendo a um leucograma de stress ou de inflamação ligeira. O MPV pode aumentar, diminuir ou estar dentro dos limites de referência. A diminuição é muito comum nos casos de TIM primária, mas pode ser artefactual (estimativa de volume realizada a partir de detritos de plaquetas nas amostras em que há trombocitopenia muito severa). O aumento do MPV sugere trombopoiese aumentada.

5.4.2 – Alterações hematológicas nos animais com AHIM: O diagnóstico laboratorial da AHIM primária inclui a identificação de anemia, inicialmente não regenerativa, tornando-se regenerativa dias depois (Balch & Mackin, 2007; Couto, 2003; Miller, 2000; Day, 1998). Um terço dos cães com AHIM tem uma anemia fracamente regenerativa. Admite-se que passa a ser regenerativa quando o número absoluto de reticulócitos ultrapassa os 60 mil/ μ L ou a percentagem de reticulócitos ultrapassa 1% (Balch & Mackin, 2007). Com a evolução do processo aumenta a quantidade de reticulócitos e surge policromasia. Pode simultaneamente estar presente leucocitose com neutrofilia marcada por um desvio à esquerda e monocitose. Como foi referido acima, cerca 50-70% dos cães com AHIM manifesta TIM concomitante, a denominada síndrome de Evans. Ocasionalmente encontra-se auto-aglutinação (em 40-89% dos animais, segundo Balch e Mackin (2007)), induzida sobretudo por IgM, mas também por grandes quantidades de IgG associadas à membrana dos eritrócitos (Couto, 2003; Miller, 2000; Day, 1999). Pode ser visualizada macro ou microscopicamente, quando se adiciona uma gota de sangue com uma gota de solução salina. Deve diferenciar-se a aglutinação inespecífica (*rouleaux*,

por mecanismos não imunes), da aglutinação persistente, que não se resolve dispersando o sangue com uma gota de solução salina. A aglutinação persistente julga-se representativa de AHIM severa e está associada a uma elevada taxa de mortalidade (Balch & Mackin, 2007; Abrams-Ogg & Matthew, 2006). A esferocitose é muito frequente (em 89-95% dos animais). Um autor assegura que o achado conjunto de auto-aglutinação, policromasia e esferocitose é patognomónico de AHIM idiopática (Couto, 2003). A confirmação depende do teste de Coombs directo (Abrams-Ogg & Matthew, 2006; Durr et al., 2000; Scott, 2000; Miller, 2000; Day, 1999).

5.4.3 – Alterações hematológicas nos animais com CID: Nos gatos o diagnóstico pode ser accidental, mas nos cães a CID deve ser pesquisada activamente para tentar antecipar e travar a progressão duma desordem potencialmente fulminante. O resultado dos exames complementares de diagnóstico vai variar em função do estágio e intensidade da CID, mas também depende do processo que a originou. Assim, o hemograma/esfregaço pode apresentar anemia hemolítica (não regenerativa a regenerativa), hemoglobínemia, esquizocitose, trombocitopenia e neutrofilia com desvio à esquerda (raramente ocorre neutropenia). Em dois estudos incluindo respectivamente 71 animais (gatos e cães) e 252 animais (apenas cães) com CID diagnosticada foram contabilizadas as frequências de alteração em dois parâmetros hematológicos, como se apresentam no quadro 5.

Quadro 5 - Frequência relativa das alterações hematológicas em cães e gatos com CID (71 animais de Couto, (2003) e 252 animais de Dufort & Matros (2005)).

	71 animais gatos - cães	252 cães
trombocitopenia	57% - 90%	86%
esquizócitos	67% - 76%	10%

5.4.4 – Alterações hematológicas nos animais com Tumores de Mastócitos: Nas análises sanguíneas pode não existir nenhuma alteração, ou podem surgir algumas das seguintes anomalias no hemograma (eosinofilia acentuada, basofilia, monocitose, neutrofilia, trombocitose, anemia) (Vandis & Knoll, 2007; Thamm & Vail, 2007; Couto, 2003; Fox, 2002). A monocitose é mais frequente em cães que em gatos e a eosinofilia/basofilia estão normalmente associadas à presença de mastócitos em circulação sistémica (Thamm & Vail, 2007; Ogilvie & Moor, 1995). A trombocitopenia é secundária aos fenómenos hemorrágicos ou, tal como a anemia, pode resultar de mieloftise.

5.5 – Análises bioquímicas sanguíneas e urianálise

Idealmente deve analisar-se o perfil hepático, renal, pancreático e muscular e completar com as determinações dos electrólitos e eventualmente de outros iões como o cálcio ou o fósforo, para encontrar evidências de doença sistémica (Heseltine, 2008; Couto, 2003; Grindem, 2000; Lewis, 2000b). A urianálise pode indicar proteinúria, compatível com doenças imuno-mediadas, mas os diagnósticos diferenciais deste achado por si só são muito diversificados (LES, dirofilariose, erliquiose, infecções bacterianas crónicas ou infecções fúngicas sistémicas e linfoma) (Heseltine, 2008; Abrams-Ogg, 2006; Couto, 2003). Quando a urianálise o sugerir está ainda indicada a urocultura com TSA.

No LES, o quadro bioquímico (hipoalbuminémia, proteinúria, e aumento de globulinas, enzimas hepáticas, BUN, creatinina e bilirrubina) pode mimetizar muitas outras afecções, daí que o diagnóstico definitivo implique a detecção de pelo menos 4 dos seguintes sinais clínicos ou laboratoriais (entre os quais citopénias, doença renal, artrite, serosite, desordens neurológicas, fotossensibilidade, urticária, teste de ANA positivo, preparação de células LE positiva ou um falso positivo à serologia de sífilis) e ainda a realização de outros exames complementares de diagnóstico que serão referidos adiante.

5.5.1 – Alterações bioquímicas associadas a AHIM: Normalmente encontra-se hemoglobinémia, bilirrubinémia e hiperproteinémia, mas identificam-se igualmente alterações bioquímicas consequentes às afecções provocadas pela anemia hemolítica (elevação das transaminases por necrose hipóxica do fígado, elevação das enzimas pancreáticas nos casos de pancreatite, azotémia por insuficiência renal aguda) (Balch & Mackin, 2007; Abrams-Ogg & Matthew, 2006; Couto, 2003). O perfil bioquímico pode mascarar ou sugerir o processo subjacente à anemia hemolítica, como tal a pesquisa das causas de AIHM secundária depende de outros exames complementares (imagiologia torácica e abdominal, citologia ou biópsia de órgãos alterados e da medula óssea, serologia/PCR para agentes infecciosos prováveis, hemo e urocultura e ainda perfil de coagulação) (Abrams-Ogg, 2006; Couto, 2003; Miller, 2000). Quando não se encontra uma justificação para a AIHM coloca-se a possibilidade de ser idiopática.

5.5.2 – Alterações bioquímicas associadas a CID: As bioquímicas sanguíneas, além de hiperbilirrubinémia, podem apresentar alterações relacionadas com MOF: azotémia, elevação das transaminases hepáticas, panhipoproteinémia, hiperfosfatémia, diminuição da concentração sanguínea de dióxido de carbono, etc. (Gentry, 2007; Abrams-Ogg, 2006; Couto, 2003). A

urianálise pode revelar hemo e bilirrubinúria ou proteinúria/cilindrúria. O diagnóstico de CID é auxiliado pelas análises bioquímicas (sanguíneas e urinárias), mas depende sobretudo das provas de coagulação, como se verá no parágrafo referente a este tema, e doutros exames complementares (Gentry, 2007). O diagnóstico de CID, propriamente dita, não exclui a necessidade de diagnóstico do processo que a desencadeou e se possível a eliminação ou correcção desse processo. Nesse sentido justifica-se a aplicação doutros exames complementares como a imagiologia torácica e abdominal que também serão abordados no momento oportuno.

5.5.3 – Alterações bioquímicas associadas a tumores de mastócitos: Nos tumores não invasivos, ou seja, que se limitam ao tecido cutâneo, não surgem alterações bioquímicas; são unicamente alterados alguns parâmetros hematológicos. Quando os tumores metastizam podem desencadear alterações nas enzimas e produtos derivados dos órgãos em que se deu a metastização. O órgão mais frequentemente atingido pelas metástases de mastocitomas é o fígado. Se um tumor de mastócitos invadir o parênquima hepático eventualmente ocorre elevação das transaminases, com ou sem colestase e aumento da bilirrubina sérica. O envolvimento hepático pode acabar por conduzir a insuficiência funcional deste órgão, associada à diminuição dos produtos sintetizados pelo fígado.

5.6 – Pesquisa de agentes infecciosos

Aplica-se para identificar os agentes de TIM e diagnosticar TIM secundária a infecção, ou para os excluir e, a par de outros procedimentos, diagnosticar a TIM primária (Couto, 2003; Grindem, 2000; Lewis, 2000b). Nem todos os agentes podem ser pesquisados por serologia e um resultado serológico negativo pode requerer confirmação ao fim de 2 ou 3 semanas, se o quadro clínico sustentar a suspeita de determinada infecção (Grindem, 2000).

Segue-se uma breve descrição dos métodos de diagnóstico de cada agente infeccioso capaz de provocar uma trombocitopénia imuno-mediada (TIM secundária a infecção).

5.6.1 – Babesiose: O diagnóstico baseia-se na história, exame físico, hematologia e citologia, bioquímicas sanguíneas e serologia (Imunofluorescência Indirecta de anticorpos anti-babésias) ou PCR. A serologia pode originar falsos negativos em animais imunodeprimidos ou com infecção hiperaguda. Nos casos suspeitos ou se repete a serologia duas ou três semanas após a primeira análise ou pesquisa o hemoparasita por PCR. Se não se recorrer ao PCR, o diagnóstico de babesiose num animal serologicamente negativo poderá ainda ser confirmado através da detecção do agente no esfregaço. O esfregaço deve ser idealmente feito a partir de sangue periférico (orelha ou base da unha) ou a partir da camada de eritrócitos adjacente à camada

flogística no sangue centrifugado, uma vez que os eritrócitos infectados são mais densos que os eritrócitos normais (Simões, 2008; Giger, 2005; Irwin, 2005; Lappin, 2003).

5.6.2 – *Erliquiozes*: Diagnosticam-se a partir da história de exposição a carraças ou proveniência duma área endémica; exame físico; citologia de esfregaço de sangue (de preferência da camada flogística) ou de linfonodo (possibilidade de detecção temporária de inclusões em forma de mórula que correspondem a pequenas bactérias gram negativas nos monócitos - Erliquiose monocítica canina, ou nos granulócitos - Erliquiose granulocítica canina); citologia de medula óssea (hipoplasia medular de todas as linhas hematopoiéticas); hematologia e análises bioquímicas; radiografia; serologia (Imunofluorescência ou ELISA para as estirpes conhecidas na região) e/ou PCR (Parnel et al., 2008; Harrus et al., 2005; Lappin, 2003; Neer & Harrus, 2003). A resposta humoral não é imediata após a infecção, mas é máxima aos 50 dias pós-infecção. Assim a serologia por IF pode originar resultados falsos negativos (serologia realizada antes da seroconversão) e falsos positivos (reações cruzadas com outros agentes, como a *Ehrlichia chaffeensis*, ou exposição sem infecção). Um resultado negativo perante uma forte suspeita clínica deve ser confirmado através duma nova serologia 3 a 4 semanas depois. Os testes rápidos baseados no método ELISA têm a limitação de não valorizar o título de anticorpos, sendo pouco informativos quanto à intensidade da infecção, mas não ocorre reacção cruzada com *Anaplasma spp* (Solano-Gallego, 2008a). O PCR é mais específico e pode confirmar a infecção, mas deve realizar-se antes da instituição de antibioterapia. Os métodos moleculares e a cultura do agente, embora confirmem um diagnóstico, clinicamente não têm aplicação (até 2 meses para obter resultados) (Simões, comunicação pessoal, Junho 1, 2008). A pesquisa de anticorpos anti-plaquetas, ANA e Factores reumatóides e o teste de Coombs directo podem ser positivos em cães com erliquiose apesar deste resultado ser mais consistente com uma doença imuno-mediada primária. Quando o teste de Coombs é positivo, admite-se que há uma reacção imuno-mediada. Há animais com testes positivos para PSAIg e com imunocomplexos séricos tanto após infecção experimental, como após infecção natural (Harrus et al., 2005; Russel & Grindem, 2000).

5.6.3 – *Anaplasmoses Trombocitotrópicas*: As bactérias responsáveis por este processo podem formar grupos de até 15 organismos por vacúolo, sendo possível a presença de até 3 vacúolos por plaqueta (Harvey, 2006). Por fissão binária os anaplasmas formam as mórulas plaquetárias azuis identificadas num esfregaço de sangue corado com Giemsa ou azul de metileno. Pelo facto de a infecção provocar a diminuição do número de plaquetas, é por vezes impossível diagnosticar a infecção com citologia. Além disso, os grânulos plaquetários desta anaplasmoses não são patognomónicos; o mesmo fenómeno de granulação das plaquetas pode

ocorrer nas inflamações. Alguns autores referem que quando existe anaplasmoses é possível diferenciar os grânulos da espécie *A. platys* e os grânulos citoplasmáticos e quando existe apenas inflamação só há um tipo de granulações e o citoplasma está mais homogêneo (Simões, comunicação pessoal, Junho 1, 2008; Amella, 2006). O diagnóstico deve ser suportado por provas serológicas e confirmado definitivamente por métodos mais fidedignos de identificação do agente, como o PCR. As provas serológicas não produzem reação cruzada com as erliquioses (Solano-Gallego, 2008a; Brow et al., 2002), mas os títulos de anticorpos produzidos por uma única infecção resolvida com tetraciclinas podem persistir muitos anos (Harrus et al., 2005).

5.6.4 – Riquetsioses: O diagnóstico é baseado no exame físico, hematológico, radiológico e serológico. A serologia por si só não é definitiva porque há casos de infecção subclínica e casos de reação cruzada. Os testes mais fiáveis e definitivos são a IFD e o PCR de material orgânico pesquisando a riquetsia em questão. Alguns animais têm um teste de Coombs positivo (Solano-Gallego, 2008a; Shaw, 2005; Lappin, 2003).

5.6.5 – Leishmaniose: O diagnóstico baseia-se na história, exame físico, hematologia e bioquímicas sanguíneas, citologia de órgãos linfóides ou lesões cutâneas e serologia (Solano-Gallego, 2008b; Cardoso, 2008; Lappin, 2003). Existe a possibilidade de cultivar o agente *in vitro* (meio NNN) e de fazer a sua identificação por PCR ou Imunohistoquímica a partir de tecidos do animal suspeito. Outra prova complementar ao diagnóstico é o proteinograma, que apenas identifica e quantifica o tipo de resposta humoral, mas não se relaciona necessariamente com a infecção por este agente. O diagnóstico definitivo deve enquadrar mais que uma análise porque cada uma dá uma indicação, mas tem limitações se não for integrada com os restantes resultados.

5.6.6 – Dirofilariose: Diagnostica-se a partir da história, exame físico e cardiológico (Radiografia e Ecocardiografia), serologia de anticorpos e/ou antígenos (a pesquisa de antígenos por si só pode resultar negativa devido à inexistência ou fraca presença de fêmeas adultas ou infecção com menos de 5 meses de duração) e citologia de sangue para pesquisa de microfilárias (eventualmente após técnicas de concentração). O diagnóstico definitivo e a identificação do agente podem ser mais céleres com a realização do PCR, embora estejam descritas técnicas de identificação microscópica após o tratamento dos agentes na amostra com fosfatase ácida (Araújo, 2008; Lappin, 2003; Elwood, 2001).

5.6.7 – FIV: O diagnóstico de síndrome de imunodeficiência depende da exclusão ou tratamento de outras causas que expliquem o quadro clínico do gato ou que possam contribuir para ele (Lappin, 2003). A história, o exame clínico e laboratorial e a radiografia são pouco

específicos do processo, embora recomendáveis para a elaboração do prognóstico. A serologia (ELISA) não é muito sensível e relatam-se casos em que nunca houve seroconversão. Portanto a confirmação da serologia deve ser feita por PCR (Cohn & Langdon, 2008).

5.6.8 – FeLV: O quadro clínico-patológico é inespecífico, portanto o diagnóstico baseia-se na de pesquisa de antígeno por IF ou ELISA (nem sempre concordantes) e a confirmação é dada por análise da medula óssea: isolamento do vírus, PCR, IF ou Imunohistoquímica. Alguns animais têm um teste de Coombs positivo (Cohn & Langdon, 2008; Lappin, 2003).

5.7 – Biópsia, citologia e histopatologia

A realização da biópsia medular é um procedimento relativamente seguro em animais trombocitopénicos. Não há o risco de originar uma hemorragia grave e a citologia é de grande utilidade (Heseltine, 2008; Moritz, 2000). Um autor refere que se o animal tem hemorragia espontânea deve ser considerada a transfusão de sangue antes da biópsia (Grindem, 2000). No esfregaço de medula identificam-se prontamente as alterações infiltrativas ou displásicas e pode ser possível encontrar microorganismos (Thomas, 2008; Couto, 2003). Quando há trombocitopénia importa sobretudo avaliar a densidade, estado de maturação e morfologia dos megacariócitos. O local habitualmente seleccionado para a aspiração, devido à acessibilidade e facilidade de manipulação, é a região proximal do úmero. Em qualquer situação, a biópsia medular pode ser útil para avaliar o prognóstico, desde que seja realizada 3 a 5 dias após o diagnóstico duma trombocitopénia aguda (Grindem, 2000). O material de biópsia medular pode ser submetido a outros estudos descritos em 5.11.

A biópsia aspirativa da medula óssea de cães recomenda-se apenas em algumas situações, nomeadamente quando há alteração de mais que uma linhagem celular, por exemplo leucopénias (Couto, 2003; Moritz, 2000; Lewis, 2000b; Mackin, 1998) ou quando as outras provas de diagnóstico, inconclusivas, levantam a suspeita de afecção medular (Heseltine, 2008). Na TIM primária há um aumento compensatório dos megacariócitos (Heseltine, 2008; Brooks & Catalfamo, 2005; Couto, 2003). Na TIM secundária a neoplasias podem encontrar-se repercussões medulares em função do tipo de tumor e da fase de evolução. Na TIM secundária a agentes infecciosos pode existir hiperplasia de megacariócitos. As erliquioses induzem hipoplasia medular de todas as linhas hematopoiéticas. Na leishmaniose é possível detectar as formas amastigotas do parasita, principalmente no interior de macrófagos, quando se realiza uma citologia de medula óssea ou citologia aspirativa de linfonodos como linfadenomegália.

Nos gatos, dada a prevalência de infecções retrovirais e a sua importância como supressores medulares, é indispensável a realização dum biópsia medular (Couto, 2003; Lewis, 2000b). Pode

encontrar-se hipoplasia ou aplasia (de todos os precursores sanguíneos ou apenas dos megacariócitos) ou mielofíse relacionada com processos infiltrativos promovidos por estas infecções virais.

As biópsias de órgãos abdominais só devem ser consideradas quando o perfil hemostático confirmar a segurança desse procedimento ou quando a contagem de plaquetas for superior a 50 mil/ μ L (Heseltine, 2008; Moritz, 2000; Grindem, 2000). Apenas o baço pode ser puncionado com agulha fina sem condicionalismos, uma vez que a espessa cápsula esplénica controla a hemorragia produzida (Heseltine, 2008; Couto, 2003). As biópsias de órgãos abdominais complementam o diagnóstico de processos que se acompanham de organomegália focal ou generalizada, nomeadamente neoplasias.

As citologias a partir de líquidos de exsudação ou derrames são também auxiliares ao diagnóstico das causas de TIM (Grindem, 2000).

5.7.1 – Biópsia medular na TIM primária: Quantidade normal a aumentada de megacariócitos quando a resposta imunitária é dirigida exclusivamente contra as plaquetas ou quantidade reduzida de megacariócitos quando a resposta imunitária se dirige contra estas células precursoras das plaquetas (Thomas, 2008; Couto, 2003). A amostra deve ser submetida a um teste de IF para detectar a presença de anticorpos contra as plaquetas (Thomas, 2008; Grindem, 2000; Day, 1998; Boudreaux, 1997).

5.7.2 – Biópsia, citologia e histopatologia nos tumores de mastócitos: A avaliação do paciente deve incluir citologia da lesão, do linfonodo regional, da camada flogística e da medula óssea, embora um autor defenda que o exame da medula óssea e da camada flogística geralmente não revelam o tumor (Lemarie, 2008). A citologia por aspiração da lesão permite um diagnóstico rápido do tipo de neoplasia: neoformação de células redondas que podem ter grânulos citoplasmáticos eosinofílicos grandes e bem corados (se o tumor for mais diferenciado) ou grânulos menores, mais anaplásicos e menos corados (se o tumor for menos diferenciado) (Lemarie, 2008; Thamm & Vail, 2007; Vandis & Knoll, 2007; Ogilvie & Moor, 1995). Frequentemente encontram-se eosinófilos devido à forte quimiotaxia que a histamina dos mastócitos exerce nestas células (Lemarie, 2008; Bergman, 2007; Vandis & Knoll, 2007). Nalguns tumores de mastócitos ocorre colagenólise, podendo observar-se bandas eosinofílicas de colagénio dispersas na preparação citológica (Vandis & Knoll, 2007). O exame citológico é suficiente para o diagnóstico e deve ser feito antes da excisão das massas cutâneas, mas não permite prever o grau de invasão dos tecidos adjacentes ou avaliar a possibilidade de

metastização (Bergman, 2007; Vandis & Knoll, 2007). A citologia da medula óssea ou a biópsia do fígado ou baço, tecidos suspeitos de invasão pelo tumor, são métodos pouco sensíveis para detectar a presença de metástases. Para avaliar a magnitude da invasão e metastização são mais adequados os métodos imagiológicos (ecografia, tomografia ou ressonância magnética).

A histopatologia, realizada após biópsia num animal com suspeita de tumor de mastócitos, permite a identificação do tipo de tumor, mas mais que isso permite o estadiamento e a classificação do mastocitoma em “bem diferenciado” (I), “moderadamente diferenciado” (II) ou “pouco diferenciado” (III). Há evidências de que quanto maior for o grau de diferenciação menor será a incidência de metastização e melhor o prognóstico do manejo médico-cirúrgico. Dois estudos, o primeiro (citado por Ogilvie e Moor (1995)) com 300 animais e o segundo (citado por Thamm & Vail (2007)) sem referência ao tamanho da amostra, calcularam a taxa de recorrência deste tumor após excisão cirúrgica: nos tumores bem diferenciados a taxa de recorrência foi estimada em 25% no primeiro estudo (não calculada no 2º estudo); nos tumores moderadamente diferenciados foi estimada em 44% e 75%, respectivamente; se forem pouco diferenciados a taxa de recorrência sobe para 76% e 80-90%, respectivamente. Outro estudo (Lemarie (2008) citando Bergman, 2005) avaliou a taxa de sobrevivência dos animais ao fim de 4 anos e concluiu que poderiam sobreviver 83% dos animais com tumores de grau I, 44% com tumores de grau II e apenas 6% dos animais com tumores de grau III.

5.8 – Imagiologia

Em primeira instância são recomendadas a radio e ecografia abdominais e eventualmente torácicas: podem revelar organomegália, nomeadamente do baço ou fígado. A espleno/hepatomegália difusas podem corresponder a sequestro de plaquetas, hematopoiese extra-medular ou neoplasia. A tomografia axial computadorizada ou a ressonância magnética podem vir a ser necessárias devido à maior sensibilidade na identificação de alterações tecidulares.

Nas situações associadas a AHIM secundária e CID, a radiografia e a ecografia são complementares ao diagnóstico, contribuindo para o apuramento das causas destes processos e para a identificação das suas consequências. A radiologia pode revelar alterações significativas nos órgãos, nomeadamente as devidas a processos neoplásicos, infecciosos ou metabólicos: aumento ou diminuição da dimensão do fígado, baço e rins. A ecografia é mais sensível, detectando as mesmas modificações de volume e ainda outras alterações histológicas macroscópicas de estruturas abdominais, incluindo linfonodos e intestino. Tem uma vantagem acrescida como método auxiliar na colheita de amostras por biópsia.

Nos animais com tumores de mastócitos é indispensável a realização duma ecografia abdominal (se necessário complementada por biópsia hepática/esplénica) e de uma radiografia torácica (embora os pulmões sejam um local muito improvável de metastização, é recomendável a sua avaliação pré-cirúrgica) (Lemarie, 2008; Thamm & Vail, 2007). Na ecografia deve prestar-se particular atenção ao exame do fígado, baço e linfonodos sublobares (Lemarie, 2008). No planeamento da recessão cirúrgica, a ecografia ou a tomografia da região da neoplasia podem ajudar na determinação das linhas de incisão (Thamm & Vail, 2007; Vanden & Knoll, 2007).

Quando a imagiologia não permite identificar ou confirmar as causas de TIM secundária, serve de suporte ao diagnóstico de TIM primária.

5.9 – Teste de Coombs Directo

Nos casos de trombocitopénia em que se encontra simultaneamente anemia hemolítica ou autoaglutinação, deve realizar-se também um Teste de Coombs Directo. Podem detectar-se os anticorpos ou imunocomplexos ligados à superfície dos eritrócitos, fazendo-os reagir com um anticorpo anti-canino/felino (Durr et al., 2000; Day, 1999; Meyer et al., 1992). Este reagente anti-canino ou anti-felino induz agregação celular (Coombs positivo) se existem anticorpos ligados à membrana dos eritrócitos. Contudo, ocorrem falsos negativos se a quantidade de anticorpos que recobre os eritrócitos for quer reduzida, quer excessiva, ou se os animais tiverem sido submetidos corticoterapia (apesar de a quantidade de anticorpos na membrana dos glóbulos vermelhos levar semanas a decrescer). A prova pode realizar-se a 37 ou a 4° (no entanto em cães é raro existir aglutinação a frio) (Boudreaux, 1997; Meyer et al., 1992). A interpretação dum resultado positivo não significa “doença auto-imune”, mas sim “doença imuno-mediada” (já que as células danificadas podem afinal ser vítimas duma reacção com outro alvo) (Couto, 2003).

5.9.1 – Teste de Coombs nas situações de AHIM: Nos animais com AHIM, mesmo que o sangue apresente autoaglutinação, o teste de Coombs pode ser negativo. O resultado é negativo em 10-30% dos animais com AHIM idiopática (Couto, 2003; Day, 1999), mas pode ser um falso negativo: basta que não exista uma quantidade suficiente de IgG ligada aos eritrócitos (o teste só é positivo se existirem mais de 200 imunoglobulinas/eritrócito, embora em humanos se saiba que a AIHM pode ser mediada com o mínimo de 20 Ig/eritrócito) (Couto, 2003).

5.10 – Provas de Coagulação

Devem ser realizadas no mínimo as determinações de APTT, PT e concentração de Fibrinogénio e dímeros-D (partindo do princípio que já se realizou o painel inicial de BT, ACT e determinação de PDF). As provas de coagulação permitem caracterizar a alteração hemostática, podendo identificar anomalias de coagulação coexistentes com a trombocitopénia. Na TIM primária não

complicada todas provas são normais. Quando existe apenas trombocitopénia, mas os valores de plaquetas são inferiores a 10 mil/ μ L, o ACT e o APTT podem aumentar artificialmente (Thomas, 2008; Couto, 2003; Mischke, 2000). Quando os animais manifestam um quadro de alteração hemostática secundária, além de trombocitopénia, ou quando o esfregaço apresenta esquizócitos, as provas de coagulação ajudam a confirmar o diagnóstico de CID, antagonismo da vitamina K ou hemorragia por outras causas (entre as quais défice/disfunção de factores de coagulação).

5.10.1 – Alterações nas provas de coagulação associadas a CID: O perfil hemostático identifica elevação dos tempos de coagulação de todas as vias, aumento da concentração dos produtos da fibrinólise e diminuição da concentração de fibrinogénio e dos anticoagulantes. Os PDF costumam aumentar significativamente, mas esse achado não é patognomónico de CID (pós-cirúrgico, insuficiência renal e hepática, resolução de hematomas) (Scott & Mackin, 2008; Abrams-Ogg, 2006). O fibrinogénio pode aumentar na fase aguda de CID, mas essa elevação é igualmente inespecífica de CID (desidratação ou inflamação). Para o diagnóstico definitivo, há autores que consideram que se confirma a CID quando se verificam pelo menos 4 das alterações indicadas no quadro 6, sobretudo na presença de esquizócitos (Couto, 2003).

Quadro 6 – Frequência relativa das alterações hematológicas em cães e gatos com CID:

71 animais de Couto (2003) e 252 animais de Dufort & Matros (2005).

	71 animais: gatos–cães	252 cães
Trombocitopénia	57% - 90%	86%
Aumento APTT	100% - 88%	92%
Aumento PT	71% - 42%	61%
Esquizócitos	67% - 76%	10%
Aumento PDF	24% - 64%	95%
Diminuição da concentração de Fibrinogénio	5% - 14%	-

Alguns autores referem que o prolongamento dos tempos de coagulação, o aumento da concentração dos produtos da fibrinólise e a diminuição da actividade dos anti-coagulantes podem não ser todos evidentes num dado momento, mas há tendência para progredirem nesse sentido quando se efectuem provas de coagulação sucessivas (Scott & Mackin, 2008). Os mesmos autores referem que a inicial elevação da concentração de fibrinogénio mascara o seu consumo na coagulação, e que deve determinar-se posteriormente a concentração deste factor para confirmar a sua diminuição progressiva num caso de CID.

5.11 – Outros testes laboratoriais

Quando a trombocitopénia parece não ser secundária a nenhum processo, coloca-se a possibilidade de ser uma doença imuno-mediada idiopática ou auto-imune. Muitas vezes não chega a haver auto-anticorpos, havendo simplesmente anticorpos aderidos às plaquetas por intermédio de outros antigénios que se ligaram a estas células sanguíneas. As provas analíticas desenvolvidas para identificar as doenças imuno-mediadas, embora espécie-específicas, têm baixa especificidade. Portanto a TIM primária continua a ser diagnosticada por exclusão. Ainda assim foram desenvolvidas provas auxiliares ao diagnóstico de TIM primária: Teste de libertação do factor III das plaquetas, IFD e IFI para anticorpos anti-plaquetários séricos ou para anticorpos ligados aos megacariócitos, ELISA (directo e indirecto) para anticorpos anti-plaquetários, citometria de fluxo para anticorpos anti-plaquetários séricos e Teste de anticorpos anti-nucleares (ANA) que identifica auto-anticorpos dirigidos ao DNA do hospedeiro. Essas provas são pouco sensíveis e pouco específicas e por si só não diagnosticam a TIM primária. Com frequência podem surgir falsos negativos nos testes indirectos e séricos porque a maioria dos anticorpos estão ligados às plaquetas (Couto, 2003; Durr et al., 2000; Day, 1999; Boudreaux, 1997). Outras provas, como o teste de ANA, podem originar falsos positivos na presença duma afecção crónica ou neoplásica com destruição celular maciça (Miller, 2008; Couto, 2003). Para além disso, quando a trombocitopénia é grave, chega a ser impossível isolar uma quantidade suficiente de plaquetas para usar em alguns testes (Scott & Mackin, 2008; Day, 1998). Apenas o teste de Coombs directo já comentado anteriormente tem uma especificidade aceitável. Os testes que pesquisam PSAIg têm de ser realizados rapidamente após a recolha do sangue uma vez que ao fim de 24-72 horas ocorrem aumentos significativos na concentração destes anticorpos (Thomas, 2008).

5.12 – Diagnóstico terapêutico

Se após todos os possíveis meios de diagnóstico não se identificar nenhuma causa promotora de TIM, é possível que a trombocitopénia seja idiopática, isto é TIM primária. Se a TIM for primária pode haver resposta ao tratamento e confirmação do diagnóstico em 2 ou 3 dias (Couto, 2003; Boudreaux, 1997) ou eventualmente ao fim de 1 ou 2 semanas (Heseltine, 2008; Mackin, 1998).

6 – TRATAMENTO E PROGNÓSTICO DE TIM

6.1 – Tratamento e prognóstico de TIM secundária

O tratamento é dirigido à causa subjacente à TIM que foi possível identificar: interrupção da administração de fármacos, antibioterapia para agentes infecciosos, ressecção cirúrgica e/ou quimioterapia de neoplasias, etc.

A terapêutica de suporte inicial do animal e o manejo adequado podem ser tão importantes como a erradicação da patologia subjacente. Permitem inclusivamente ganhar tempo enquanto se realizam os exames complementares de diagnóstico. Quando a origem da TIM não pode ser combatida, aplicam-se os princípios da TIM primária, como paliativo na TIM secundária.

6.1.1 – Babesiose: O tratamento específico (dipropionato de imidocarb 6 mg/kg IM 2 tratamentos com 2 semanas de intervalo) e o tratamento de suporte permitem a recuperação clínica, mas é impossível erradicar a infecção. Como tal a seropositividade pode ser persistente. A vacinação não confere uma protecção completa, dada a variedade de estirpes, e não pode administrar-se a animais infectados (Straubinger, comunicação pessoal, Maio 31, 2008; Irwin, 2005; Giger, 2005; Ramsey et al., 2001; Jarret & Ramsey, 2000). Além do controlo dos vectores, está descrito um protocolo profilático mensal com dipropionato de imidocarb (2,4 mg/kg SC) (Ramsey et al., 2001).

6.1.2 – Erliquioses e Riquetsioses: O tratamento é possível com antibioterapia de doxiciclina (10 mg/kg bid, durante 4 a 6 semanas nas erliquioses e durante 2 semanas nas riquetsioses), mas a erradicação dos agentes e a seronegativação podem nunca ser alcançadas (Greig et al, 2006; Harrus et al., 2005; Neer & Harrus, 2003).

6.1.3 – Leishmaniose: Existem muitos protocolos de tratamento leishmanicida e leishmanioestático, mas nenhum se provou definitivo na eliminação da infecção (compostos antimoniais, alopurinol, miltefosina, etc.) (Solano-Gallego, 2008b). Os anticorpos específicos podem por isso nunca desaparecer. A prevenção continua a limitar-se ao controlo dos vectores e dos portadores. A vacina em desenvolvimento na Europa não foi ainda concluída (Cardoso, 2008; Neves et al., 2007).

6.1.4 – Dirofilariose: Recentemente o tratamento farmacológico sofreu alterações, sendo recomendado principiar com o controlo das formas imaturas (derivados de ivermectinas) e 3 a 6 meses depois instituir a terapêutica adulticida (melarsomina) (Araújo, 2008). Nos casos mais severos é indispensável a remoção cirúrgica dos adultos por cateterismo jugular. A prevenção implica controlo dos vectores (mosquitos *Culex*, *Aedes* e *Anopheles*) e dos animais portadores,

inclusivamente gatos que são resistentes à infecção (não desenvolvem formas adultas, mas são reservatórios de microfilárias) (Ferasin & Knight, 2005).

6.1.5 – Outras doenças bacterianas: Na leptospirose o tratamento específico consiste em antibioterapia durante 2 semanas: ampicilina IV (22 mg/kg a cada 8 h) ou penicilina G IV ou IM (25.000-40.000 U/kg a cada 12 h). Na fase aguda a penicilina pode ser associada a quinolonas (como a enrofloxacina ou a doxiciclina) (Lappin, 2003). A vacinação globalizada provavelmente já erradicou a *Leptospira ictero-haemorrhagiae*, (Tennant, 2001) mas as vacinas têm duas grandes limitações: só protegem da infecção por alguns serovares e induzem uma imunidade com duração inferior a um ano. Na tularémia, o tratamento específico consiste em antibioterapia com gentamicina, estreptomicina ou tetraciclina, mas há poucas referências à taxa de sobrevivência.

6.1.6 – CID: Os objectivos terapêuticos, além da eliminação da causa primária quando possível, são: minimizar a coagulação intravascular, manter a perfusão orgânica e prevenir complicações (Scott & Matthew, 2008; Abrams-Ogg, 2006; Couto, 2003; Boudreaux, 1997).

Para minimizar a coagulação intravascular utiliza-se a transfusão de sangue e a administração de heparina. A transfusão pode ser feita com sangue ou plasma, dependendo do défice de transporte de oxigénio de cada animal. O essencial é que o produto seleccionado seja fresco, de modo a proporcionar elementos da coagulação com capacidade funcional: plaquetas, factores de coagulação e anticoagulantes naturais.

A heparina começou por ser usada empiricamente em 1916, (Harnett & Kerl, 2007) mas persiste a controvérsia sobre o seu real benefício. Se a CID é marcada por um estado hemorrágico parece contra-indicado administrar anti-coagulantes. Do mesmo modo, sendo a CID um processo hipercoagulatório, parece controverso fornecer adicionais produtos sanguíneos pró-coagulantes. Ambas as abordagens podem ser encaradas como “achas para a fogueira” (Couto, 2003), mas, na experiência da maioria dos autores, aumentam a sobrevivência dos animais. Segundo a maior parte dos autores (Scott & Mackin, 2008; Abrams-Ogg, 2006; Couto, 2003) a heparina em baixa dose é a indicada na maior parte das situações, mas certos autores ressaltam que só deve administrar-se nos animais em que predomina a tendência trombótica (Scott & Mackin, 2008), não devendo usar-se profilaticamente quando as anomalias das provas de coagulação não são acompanhadas por sinais clínicos (excepto quando se prevê a realização de intervenções invasivas para diagnóstico ou terapêutica).

A heparina, associada ou não a transfusão, pode ser administrada em vários protocolos. Este anticoagulante combina-se com a anti-trombina, potenciando o efeito desta em 1000 a 4000 vezes (Harnett & Kerl, 2007), mas na ausência de AT não tem efeito significativo. O complexo

neutraliza os factores II, IX, X, XI e XII, mas não tem actividade sobre os trombos já formados (Ware, 2003). A neutralização dos factores Xa e XIa são inerentes à própria AT; por sua vez, a inactivação do factor II deve-se à formação de um complexo entre a heparina, a AT e a trombina activada. A administração de heparina leva à diminuição da actividade de AT no prazo de 24 horas e esta pode não ser compensada apenas com a administração de plasma (Harnett & Kerl, 2007).

A heparina sódica (não fraccionada) por via SC ou IV a cada 6 ou 8 h, pode ser usada em mini-dose (5-10 UI/kg), baixa dose (50-100 UI/kg), dose intermédia (300-500 UI/kg) ou dose elevada (750-1000 UI/kg) (Scott & Mackin, 2008; Abrams-Ogg, 2006; Couto, 2003). A via oral só é opção em profilaxia e a via SC tem um período de acção retardado (1 a 2 horas). Para um efeito imediato deve administrar-se por via IV. As doses mais baixas não provocam elevação do ACT e APTT em cães saudáveis, nem nos animais com CID (Couto, 2003), portanto se a monitorização hemostática revelar prolongamento destes parâmetros, conclui-se que dependem da CID e não do tratamento. Alguns autores incubam a 1ª dose de heparina com o sangue a transfundir (cerca de 30 minutos antes da transfusão) (Harnett & Kerl, 2007; Abrams-Ogg, 2006; Couto, 2003). A justificação é que se dá *à priori* a interacção entre a heparina e a AT sanguínea, sendo o complexo activo logo desde a administração ao animal.

Quando já há sinais da síndrome inflamatória multissistémica estão indicadas as doses mais elevadas, que elevam o APTT para o dobro do normal (Harnett & Kerl, 2007; Couto, 2003; Ware, 2003). Se nestes casos ocorrer sobre-heparinização (APTT mais do triplo) administra-se uma infusão IV lenta de sulfato de protamina, na dose de 1 a 1,5 mg por cada 100 UI de heparina fornecidas na última administração. Devido ao risco de anafilaxia aguda deste fármaco, mas também devido ao perigo de sobredosagem, 50% da dose de protamina calculada é infundida 1 hora depois da última administração de heparina, 25% dessa dose 1 hora depois da primeira e os restantes 25% só se administram se o APTT ainda não estiver no intervalo desejável. Posteriormente retoma-se progressivamente a heparinização (ao longo de 1 a 3 dias para que não volte a ocorrer sobredosagem e para prevenir a hipercoagulabilidade compensatória). A maior limitação da heparina convencional é a grande diversidade de moléculas (a variação dos pesos moleculares traduz-se na variação da actividade anticoagulante e da farmacocinética) (Harnett & Kerl, 2007): quanto maior a molécula, mais rápida a sua eliminação e logo, maior a frequência de administração necessária e maior a imprevisibilidade dos efeitos anti-coagulantes dos metabolitos gerados.

Actualmente investiga-se a administração de heparina de baixo peso molecular (HBPM) em cães

(enoxeparina e dalteparina). Estas moléculas são derivadas por despolimerização da heparina convencional (não fraccionada). Constituídas por polímeros de dimensão inferior e uniforme, estas moléculas interagem da mesma forma com a AT, mas apresentam vantagens: efeito mais prolongado no cão (2 a 4 vezes o da heparina não fraccionada), maior previsibilidade de acção, menor afinidade pelo factor II (que se traduz em menos efeitos sobre a via comum), menor susceptibilidade à inactivação pelo factor 4 das plaquetas, menor ligação às proteínas plasmáticas e menor ou nenhuma capacidade de activação plaquetária. Contudo é mais difícil avaliar a dosagem porque interferem muito pouco com os testes de coagulação habituais, nomeadamente o APTT. A eliminação renal implica o aumento da semi-vida nos doentes renais. As doses para animais são extrapolações a partir de humanos e animais saudáveis. Em cães recomenda-se enoxeparina 0,8 mg/kg SC cada 6 h e dalteparina 150 UI/kg SC cada 8 h. Nos gatos a dose de enoxeparina é de 1,25 mg/kg e a de dalteparina é de 180 UI/kg, com a mesma via e a mesma frequência de administração que cada um dos compostos no cão. A reversão da sobredosagem é idêntica à da heparina convencional, com 1 mg de protamina por cada 100 UI de dalteparina ou 1 mg de enoxeparina. Quando se decide suspender o tratamento, deve-se fazê-lo progressivamente ao longo de uma semana para evitar a hipercoagulabilidade compensatória (Harnett & Kerl, 2007). O preço do tratamento com estes compostos é superior ao da heparina convencional, mas requerem menos monitorização laboratorial que compensa de alguma forma os custos. A avaliação laboratorial consiste na quantificação do Antifactor X activado. Aparentemente as heparinas de baixo peso molecular não têm vantagens sobre a heparina convencional já que a conveniência de uma única administração diária nos humanos não é extrapolável para os animais (Harnett & Kerl, 2007; Ware, 2003).

O 2º pilar do tratamento da CID, manter a perfusão orgânica, é alcançado com uma fluidoterapia agressiva por cristalóides ou expansores de plasma. Sem que ocorra hiperhidratação, é desejável manter patente toda a rede circulatória (redireccionar o sangue para áreas de troca gasosa mais eficiente), eluir os microtrombos da microcirculação e diluir quanto possível os produtos da fibrinólise e factores de coagulação em circulação.

O último pilar, prevenção de complicações de CID, pode incluir oxigenioterapia, correcção da acidose, controlo da função cardíaca (arritmias, VPC), controlo de infecções bacterianas secundárias à invasão da barreira intestinal e, na prática de alguns autores, é ainda essencial a analgesia com opióides (butorfanol, fentanil, morfina ou hidroximorfona) (Abrams-Ogg, 2006).

Os indicadores de prognóstico mais coerentes são a magnitude da trombocitopénia e da elevação do APTT. Na generalidade das situações o prognóstico é mais desfavorável se a causa primária

não puder ser revertida. A CID secundária a hipertermia é dos quadros com melhor prognóstico porque a causa pode ser facilmente corrigida (Dufort & Matros, 2005). No primeiro estudo a que se refere o quadro 6 (Couto, 2003), estimou-se uma taxa de mortalidade por CID de 54% (37% nos quadros que envolviam menos de 3 alterações hemostáticas e 74% de mortalidade nos animais com alterações maior número de alterações no perfil hemostático).

6.1.7 – AHIM: O tratamento da AIHM primária sem icterícia é idêntico ao de outras doenças imuno-mediadas como o LES e a TIM Primária: imunossupressão por glucocorticóides e se necessário suporte terapêutico adicional (outros imunossupressores, transfusões de sangue ou derivados em função do quadro hematológico, fluidoterapia). O prognóstico é reservado, uma vez que pode haver recuperação clínica temporária e, meses ou anos depois, a AHIM pode recidivar ou podem surgir outras manifestações imuno-mediadas (Day, 1999).

Quando há icterícia não basta uma corticoterapia agressiva, porque muitas vezes o quadro progride para CID com tromboembolismo de vários órgãos (Couto, 2003). Certos autores referem que a CID pode ser propiciada por venipunção, cateterização e corticoterapia e recomendam a minimização destes procedimentos (Giger, 2005). Assim sendo, nos animais ictéricos recomenda-se imunossupressão com ciclofosfamida 200-300 mg/m² *per os* ou IV lenta (associada ou não a uma dose IV de 1-2 mg/kg de dexametasona), profilaxia do tromboembolismo com heparina não fraccionada 50-75 UI/kg SC tid (segundo Harnett & Kerl (2007) e Couto (2003)) ou até 1500 U/kg (segundo Balch & Mackin (2007) e Abrams-Ogg (2006)) ou HBPM (dalteparina 150UI/kg cada 12 h ou enoxeparina 0,8 mg/kg cada 6 horas, ambas por via SC), acompanhada por fluidoterapia agressiva para facilitar a eliminação das possíveis agregações. Se o tromboembolismo for já patente a dose de heparina deve ser elevada para 700-1000 UI/kg. A sobre-heparinização que possa ocorrer com este regime controla-se com uma infusão lenta de protamina (1mg/100 UI de heparina administradas), monitorizando o risco de anafilaxia. Um ensaio que comparou os resultados de tratamento de cães com AHIM com heparinização profilática e sem heparinização (citado por Harnett e Kerl (2007)), não mostrou diferenças significativas nos valores laboratoriais entre os 2 grupos. Contudo o grupo heparinizado teve uma menor probabilidade de sobrevivência, que pode explicar-se pelo facto de a heparina bloquear a ligação do sulfato de heparano endógeno à AT e consequentemente inibir os efeitos anti-inflamatórios do complexo heparano-AT.

Os casos de AIHM primária refractários podem beneficiar doutros protocolos (Ig humana IV, azatioprina, ciclosporina, clorambucil, danazol, plasmaferese, esplenectomia) (Balch & Mackin,

2007; Couto, 2003; Miller, 2000; Day, 1999). A maior parte dos animais requer imunossupressão de manutenção por um longo período e eventualmente para o resto da vida. O prognóstico destes animais é desfavorável. Com a instituição do tratamento imunossupressor o hematócrito pode aumentar rapidamente, mas os anticorpos não são necessariamente eluídos da superfície das células. Ainda assim não é necessário esperar que o teste de Coombs seja negativo para reduzir a dose terapêutica de remissão (Day, 1999).

Os animais com AIHM primária em remissão devem ser monitorizados regularmente (cada 2 a 4 semanas) tanto para avaliar a resposta à terapêutica e adaptá-la, como para vigiar os efeitos colaterais dos fármacos utilizados. A azatioprina administrada por muito tempo origina uma anemia não regenerativa ligeira, clinicamente não significativa (HCT 30%), que deve distinguir-se de uma recidiva de AIHM. Daí em diante devem evitar-se sempre que possível os factores iniciadores desta afecção imuno-mediada (Balch & Mackin, 2007; Day, 1999).

Se o quadro de AIHM idiopática persiste após várias tentativas de abordagem com imunossupressores, é recomendável uma pesquisa meticulosa das causas de AIHM secundária. Podem ter surgido entretanto ou já se encontravam presentes no episódio inicial, mas não foram correctamente diagnosticadas (Miller, 2000).

6.1.8 – Tumor de mastócitos: Analogamente à medicina humana, os pacientes com extensas neoplasias deste tipo ou com quadro simultâneo de CID têm sempre um prognóstico desfavorável (Lemarie, 2008; Fox, 2002), embora haja autores que considerem que esta conclusão ainda não é válida em medicina veterinária (Bergman, 2007). Actualmente, a elaboração do prognóstico baseia-se apenas na histopatologia e fase clínica da doença (a localização da neoplasia como factor de prognóstico está a ser contestada) (Thamm & Vail, 2007; Vandis & Knoll, 2007). Espera-se que se estabeleça correlação com outros indicadores (localização da neoplasia, AgNOR e outros parâmetros imunohistoquímicos e moleculares) (Dobson & Scace, 2007; Thamm & Vail, 2007). Para já identificou-se uma correlação entre a quantidade de AgNOR nos tumores de mastócitos e o prognóstico, mas essa relação não é independente da classificação histopatológica/agressividade clínica (Vandis & Knoll, 2007; Dobson & Scace, 2007).

A decisão terapêutica ou paliativa perante um animal com um tumor de mastócitos é tomada atendendo aos indicadores de prognóstico e às possibilidades técnicas. Quando a lesão é cutânea e é possível a ressecção com margens limpas a cirurgia é o procedimento de eleição. Um autor refere que se devem administrar anti-histamínicos no pré-cirúrgico (Irizarry-Rovira, 2008). A ressecção cirúrgica deve incluir um perímetro de 2 cm de tecido normal e, quando a

histopatologia detecta células neoplásicas nessa margem cirúrgica, está indicada uma nova ressecção ou a aplicação de radioterapia. Para mastocitomas de grau II ou III nas extremidades existe a opção de amputação do membro, aliada ou não a radioterapia, ou a alternativa de radioterapia como terapêutica exclusiva.

Além da cirurgia/radioterapia, recomenda-se fazer o tratamento sintomático dos sinais gastro-intestinais (anti-histamínicos H1 ou H2 – difenidramina ou famotidina, inibidores da bomba de prótons, sucralfato, etc.) (Irizarry-Rovira, 2008; Lemarie, 2008; Vandis & Knoll, 2007; Thamm & Vail, 2007).

Em todos os casos, é necessário manter um controlo regular da recidiva local/sistémica da neoplasia: ao mês, depois cada 3 meses (durante um ano e meio) e daí em diante a cada 6 meses. Nas recidivas em que a cirurgia pode resultar, é adequado fazer nova ressecção, seguida de radio e eventualmente quimioterapia (lomustina, vinblastina, vincristina, clorambucil ou prednisolona) (Lemarie, 2008). Há referências a muitos outros protocolos terapêuticos (desde administração intralesional de água desionizada à terapia fotodinâmica), mas nenhum está suficientemente fundamentado (Thamm & Vail, 2007). A teoria da água desionizada voltou a ser defendida por um novo artigo científico, que propõe que os mastócitos são células muito sensíveis ao choque hipotónico (Dobson & Scace, 2007). A administração de água desionizada num dos estudos diminuiu a probabilidade de recorrência para 24%, quando comparada com outros tratamentos que excluía este procedimento (54%).

Para os mastocitomas de grau I ainda não foi encontrado um tratamento definitivo, embora se apliquem os métodos mais agressivos referidos anteriormente para os graus II e III. Resta a palição sistémica para prolongar a vida com o mínimo de desconforto possível: anti-histamínicos H1 e H2, inibidores da bomba de prótons, sucralfato ou prostaglandina E sintética, corticoterapia e/ou quimioterapia. Os protocolos quimioterápicos combinados aparentemente são os mais eficazes no controlo dos sinais clínicos e podem mesmo prolongar a sobrevivência por mais de 4 anos (Thamm & Vail, 2007). Encontram-se actualmente em estudo possíveis inibidores da proliferação dos tumores de mastócitos. São inibidores da molécula quinase já com um efeito promissor em oncologia humana, como o SU11654 (Dobson & Scace, 2007; Vandis & Knoll, 2007).

6.2 – Tratamento e prognóstico de TIM primária

Na TIM primária deve considerar-se a necessidade do tratamento de suporte ao animal crítico, uma vez que a afecção é potencialmente fatal. O tratamento propriamente dito consiste em

imunossupressão, mas a terapêutica inclui outras abordagens que visam melhorar o funcionamento geral da hemostase e prevenir as complicações.

6.2.1 – Transfusões: Realizam-se para combater a anemia decorrente da hemorragia, para elevar, ainda que transitoriamente, a contagem de plaquetas, para prevenir efeitos mais dramáticos de hemorragia em pacientes de risco ou em cirurgias muito hemorrágicas (esplenectomia), e para permitir ganhar tempo até que a terapêutica farmacológica seja efectiva (Thomas, 2008; Heseltine, 2008; Abrams-Ogg, 2006).

A escolha dos fluidos apropriados varia com as fracções sanguíneas em défice no animal, portanto pode ser mais benéfico sangue inteiro se houver anemia ou hemorragia, concentrado de plaquetas se existir uma trombocitopénia pura severa ou plasma rico em plaquetas se existir concomitantemente perda de plaquetas e factores de coagulação. Os produtos derivados do sangue são muito diversificados, mas duma maneira geral quanto mais aumentar o tempo de conservação, mais diminui a viabilidade das plaquetas e a actividade dos factores de coagulação presentes nos produtos conservados (excepto no plasma fresco congelado em que os factores de coagulação persistem até 1 ano) (Day, 1999; Boudreaux, 1997). Os produtos derivados do sangue podem ser adquiridos comercialmente ou preparados especialmente por um laboratório. O plasma fresco rico em plaquetas administra-se a 10 ml/kg e espera-se que eleve a contagem de plaquetas em 10.000/ μ L. Há animais que beneficiam de transfusões sucessivas e outros em que é inútil repetir a transfusão (a resposta à primeira administração se plaquetas é medíocre quando a contagem de plaquetas não se eleva ou quando a contagem de plaquetas volta a decrescer após 24 horas) (Heseltine, 2008).

6.2.2 – Imunossupressão: A seguinte discussão refere-se a cães, já que os gatos raramente apresentam TIM primária. Em gatos geralmente é suficiente a corticoterapia imunossupressora (4-8 mg/kg cada 24 h), de preferência prednisolona e não prednisona associada a transfusão de sangue (Grindem, 2000; Day, 1999). Raramente há necessidade de associar imunossupressores doutra categoria.

A imunossupressão traduz-se no bloqueio dos receptores Fc dos fagócitos (que tenderiam a ligar-se às imunoglobulinas que revestem as plaquetas) e no atraso da produção de anticorpos (por intermédio da supressão de células T). Ao mesmo tempo, a imunossupressão diminui a adesão das Ig e complemento às plaquetas e estabiliza o endotélio vascular (Fry & McGavin, 2007; Brow et al, 2002; Day, 1999). O efeito de alguns imunossupressores não é imediato e duma maneira geral as Ig circulantes têm uma semi-vida de cerca de 1 semana (Couto, 2003; Day, 1999). Por estas duas razões o controlo da TIM não é alcançado imediatamente após a instituição

de terapêutica imunossupressora. Quando há TIM primária a trombocitopénia começa a resolver-se em 24-96 h e em média fica recuperada em 8 dias (no mínimo 2, no máximo 35 dias) (Thomas, 2008; Heseltine 2008; Brooks & Catalfamo, 2005). O objectivo mais urgente é conseguir uma contagem de plaquetas acima do limiar de risco (50.000/ μ L). O objectivo final é conseguir normalizar a contagem de plaquetas (Thomas, 2008; Heseltine, 2008) e progressivamente reduzir a administração de fármacos imunossupressores. Durante a redução do tratamento imunossupressor deve controlar-se regularmente o número de plaquetas para ajustar a medicação e para monitorizar uma eventual recidiva de trombocitopénia. Idealmente a imunossupressão farmacológica deveria continuar-se em doses reduzidas pelo menos durante 3-6 meses após normalização dos valores plaquetários. A imunossupressão farmacológica pode levar à recuperação e remissão 40% dos casos (Grindem, 2000; Day, 1999).

Mesmo antes de se haver ainda excluído a possibilidade da TIM secundária a erliquioses/riquetsioses, pode associar-se a imunossupressão a doxiciclina *per os* ou IV (5-10 mg/kg cada 12-24 h). Esta combinação não é prejudicial se o diagnóstico vier a TIM secundária a agentes infecciosos e não TIM primária (Heseltine, 2008; Couto, 2003; Boudreaux, 1997).

- glucocorticóides em dose imunossupressora são o tratamento inicial de eleição, mas se não se provarem eficazes devem ser associados ou substituídos por outros imunossupressores. Os efeitos que contribuem decisivamente para a remissão da TIM são a eluição das Ig ligadas à superfície das plaquetas e a supressão da actividade do sistema mononuclear. Os autores recomendam unanimemente prednisona/prednisolona PO 2-4 mg/kg/dia com ou sem uma dose inicial IV de dexametasona (0,2 mg/kg) ou dexametasona IV 0,2 mg/kg cada 24 h (Thomas, 2008; Heseltine, 2008; Dufort & Matros, 2005; Couto, 2003; Grindem, 2000; Lewis, 200b; Day, 1999; Boudreaux, 1997). Geralmente referem que em tratamentos prolongados a prednisona é preferível à dexametasona (a dexametasona é mais agressiva para a mucosa digestiva, o que é catastrófico num animal hemorrágico) (Couto, 2003).

A posologia de glucocorticóides deve ser mantida até 2 a 4 semanas após à normalização do número de plaquetas e em seguida reduzir progressivamente a dose (50% cada 2 ou 4 semanas), tendo como base de decisão uma recente contagem de plaquetas (se a contagem não tiver aumentado ou se tiver diminuído novamente, a posologia permanece como até então) (Heseltine, 2008). Quando não se consegue atingir um valor de plaquetas dentro do normal, e apenas se consegue uma estabilização num patamar seguro, pode-se começar a baixar a dose de glucocorticóide. A redução excessivamente rápida conduz a recidiva. A não redução pode levar

ao desenvolvimento dos efeitos secundários dos corticosteróides. Para terapêuticas crônicas a dose de 0,5-1 mg/kg em dias alternados parece ser bem tolerada.

- vincristina (0,5 mg/m² ou 0,02 mg/kg IV) estimula a divisão celular dos megacariócitos resultando na libertação precoce de plaquetas. No entanto, segundo um autor (Day, 1999), os trombócitos libertados pela medula são células imaturas e menos funcionais. Consequentemente, uma eventual hemorragia pode agravar-se antes que a trombocitopénia se atenuar. Segundo a maior parte dos autores a administração de vincristina pode ser vantajosa para produzir a elevação inicial da contagem de plaquetas que afasta o risco de hemorragia. A vincristina tem ainda efeitos imunossupressores ligeiros (Thomas, 2008; Heseltine, 2008; Bianco, Armstrong & Washabau, 2007; Couto, 2003). Ainda insuficientemente provados estão os benefícios da administração duma infusão constante de vincristina ou de plaquetas incubadas com este alcalóide (*vinca loaded platelets*), monitorizando o perigo de administração extra-vascular.

- azatioprina (50 mg/m² cada 24-48 h ou 2 mg/kg cada 24 h *per os*, com redução para 1-2 mg/kg a cada 48 h ou para 0,5-1 mg/kg cada 48 h (Thomas, 2008; Heseltine, 2008; Couto, 2003; Grindem, 2000). A azatioprina é adequada à manutenção da TIM, mas imprópria para a indução da remissão, uma vez que demora 2 a 4 semanas a tornar-se efectiva (Couto, 2003). A longo prazo pode ter melhor tolerância orgânica que a corticoterapia, mas implica uma monitorização sanguínea mais apertada devido ao perigo de mielossupressão, hepatotoxicidade, pancreatite e predisposição para infecções (Heseltine, 2008; Couto, 2003; Day, 1999). A azatioprina reduz a produção de anticorpos dirigidos às plaquetas, portanto se ao fim de 2 a 4 semanas de tratamento houver normalização da população plaquetária, as doses de azatioprina e prednisona podem ser reduzidas para a dose mínima eficaz.

- ciclofosfamida (dose única de 200-300 mg/m² IV ou *per os* apenas na indução de remissão (contra-indicada como agente de manutenção, porque a longo prazo induz cistite hemorrágica asséptica) ou 50 mg/m² durante os 4 primeiros dias de cada semana, por um máximo de 5 meses, combinada com prednisona) (Thomas, 2008; Heseltine, 2008; Couto, 2003; Grindem, 2000). Em geral é considerada mais nefasta e menos bem tolerada que a azatioprina. Os efeitos secundários incluem a referida cistite hemorrágica, sobretudo em fêmeas após 8 a 10 semanas de tratamento, e ainda mielossupressão e susceptibilidade a infecções.

- ciclosporina (5 mg/kg cada 12-24 h *per os* ou 15 mg/kg cada 24 h *per os* em alternativa ou em complemento à azatioprina). A sua utilização na TIM primária ainda foi pouco documentada. Parece ter a vantagem de facilitar o controlo da TIM refractária aos glucocorticóides, mas não

está livre de efeitos secundários (anorexia, vômito, diarreia e perda de peso, hiperplasia gengival, papilomatose e nefrotoxicidade) (Heseltine, 2008; Couto, 2003; Grindem, 2000). O custo é elevado.

6.2.3 – *Outros tratamentos*

- Anti-histamínicos H₂ - famotidina 0,5 mg/kg cada 24 h, *per os*, para proteger dos efeitos gastro-intestinais da corticoterapia (evitar a cimetidina porque foi implicada em alguns casos de trombocitopenia induzida por fármacos).

- danazol (5-10 mg/kg cada 12 h *per os*) é um androgénio, pouco masculinizante, que atinge o máximo efeito ao fim de 3 a 6 meses de administração: diminuição da produção de anticorpos anti-plaquetas e dos receptores dos macrófagos (Heseltine, 2008; Couto, 2003; Grindem, 2000; Day, 1999; Boudreaux, 1997). Apesar de o custo ser elevado, pode usar-se complementarmente à corticoterapia. Quando a dose de prednisona for reduzida para dias alternados, a dose de danazol é diminuída progressivamente para a mínima eficaz. Mensalmente deve monitorizar-se a função hepática que pode ser afectada pela duração prolongada do tratamento com o anabolizante. Estão descritos cães com TIM primária refractária ao danazol (Heseltine, 2008).

- imunoglobulina humana hIg (dose única de 0,5-1 g/kg IV ou até cada 4 h ou 0,28-0,76 g/kg) (Heseltine, 2008; Bianco et al., 2007; Day, 1999). A gama-globulina humana é bem tolerada pelos animais, logo pode administrar-se numa dose tão elevada com efeito preventivo enquanto os outros fármacos não actuam. Consiste numa preparação de IgG, com vestígios de IgM e IgA, purificada a partir duma população humana saudável (Bianco et al., 2007). A sua actividade antigénica satura os receptores Fc dos macrófagos de forma inespecífica, impedindo a fagocitose doutras partículas. Além disso, proporciona IgG que se ligam aos anticorpos circulantes inactivos. É cara, mas útil em casos de TIM refractários.

Num estudo realizado com 5 cães (Bianco et al., 2007), que responderam à corticoterapia, a administração IV de uma só dose de hIg no 3º dia de tratamento imunossupressor, concluiu-se que na dose de 0,28-0,76 g/kg não provoca reacções adversas e diminui o tempo de internamento necessário para controlar o episódio de TIM primária (paragem da hemorragia espontânea, estabilização do hematócrito e elevação da contagem de plaquetas acima de 30.000/ μ L); um dos animais não respondeu à hIg, na medida em que, ao contrário dos outros, não sofreu uma elevação dramática da contagem de plaquetas imediatamente após o tratamento com hIg. Segundo o mesmo estudo, a administração de hIg deve realizar-se uma única vez, ao longo de 6 horas, para evitar uma reacção alérgica aguda e a formação de complexos imunes contra o

fármaco. A dose varia entre 0,5 e 1,5 g/kg, mas parece que doses mais baixas são igualmente eficazes e ajudam a reduzir o custo do tratamento (500 dólares/cão de 10 kg de peso vivo). A possível reacção adversa documentada na literatura é o vómito (registado num cão, durante a administração de hIg), mas recomenda-se a monitorização do animal durante a administração deste composto. É de evitar a administração simultânea de colóides, já que a hIg tem elevada pressão oncótica e essa propriedade repercute-se na pressão oncótica plasmática.

- plasmaferese: não é concretizável na maioria das clínicas e tem uma utilidade muito discutível, uma vez que só extrai os anticorpos circulantes livres (Couto, 2003; Scott, 2000; Day, 1999).
- esplenectomia: por muitos autores é considerada o último recurso (Heseltine, 2008; Scott, 2000; Day, 1999). O procedimento visa eliminar um local de destruição de plaquetas e de síntese de anticorpos contra elas. A validade da esplenectomia não é consensual, uma vez que a trombólise pode continuar a processar-se no fígado. Refere-se ainda que há animais que não beneficiam minimamente do procedimento: além de a esplenectomia não impedir a progressão da TIM, não cumpre sequer o objectivo de prolongar a viabilidade de plaquetas transfundidas (sobretudo se existirem PSAIg em circulação).

6.2.4 – Controlo

Nos primeiros 2 meses de terapêutica os controlo devem ser semanais ou bimensais. Em seguida deve repetir-se o hemograma antes de cada redução de dosagem para confirmar que não houve agravamento da trombocitopénia. Quando se atingir a normalização do número de plaquetas, os controlos devem passar a fazer-se de 3 em 3 meses (Heseltine, 2008) ou pelo menos semestralmente (Day, 1999) porque nunca se afasta a hipótese de recidiva e esta é muitas vezes insidiosa e pode passar despercebida aos donos do animal.

Daí em diante recomenda-se minimizar a administração dos produtos farmacológicos que estejam conotados com a TIM, entre os quais as vacinas. Recomenda-se que se faça apenas a profilaxia principal e obrigatória (um agente vacinal de cada vez) precedida e seguida pela contagem de plaquetas (Heseltine, 2008).

Segundo um autor (Couto, 2003), a não resolução da TIM primária só pode ter duas justificações: diagnóstico errado ou tratamento errado (escolha incorrecta da combinação de fármacos, dosagem insuficiente ou duração do tratamento insuficiente). Quando se suspeita de erro de diagnóstico está indicado repetir ou aprofundar a avaliação das causas de TIM secundária (Heseltine, 2008).

A principal causa de morte natural nos animais com TIM primária é uma hemorragia gastro-intestinal severa. Outros animais são submetidos a eutanásia, porque têm frequentes recidivas e/ou requerem um tratamento de longa duração que não pode ser sustentado pelos proprietários (Heseltine, 2008; Day, 1999; Mackin, 1998).

Ainda que seja uma doença potencialmente fatal (entre 25% e 30% dos casos segundo Heseltine (2008) e Mackin (1998)), o prognóstico é maioritariamente favorável, embora às vezes seja à custa duma terapêutica vitalícia. A taxa de recorrência estima-se em 40% (Thomas, 2008 (citando Lewis & Meyer, 1996); Day, 1999).

IV – APRESENTAÇÃO DE CASOS CLÍNICOS DE TIM

1 - INTRODUÇÃO

Durante o período de estágio foram acompanhados 32 cães e 5 gatos com trombocitopénia. A contagem de plaquetas foi realizada num aparelho de contagem automática *Lasercyte* e nunca foi confirmada através de esfregaço.

Em todos os cães, excepto um, foram realizados exames complementares de diagnóstico que permitiram chegar a um diagnóstico definitivo e determinar a causa de trombocitopénia (Gráfico 1), mas apenas 2 dos 5 gatos foram suficientemente avaliados de modo a elaborar o diagnóstico (Gráfico 2). Os outros 3 gatos que manifestavam trombocitopénia não só não fizeram exames complementares de diagnóstico, como também não foram objecto de qualquer medida terapêutica, por decisão dos proprietários.

Gráfico 1 – Distribuição por etiologia dos casos de trombocitopénia observados em cães, em valores absolutos.

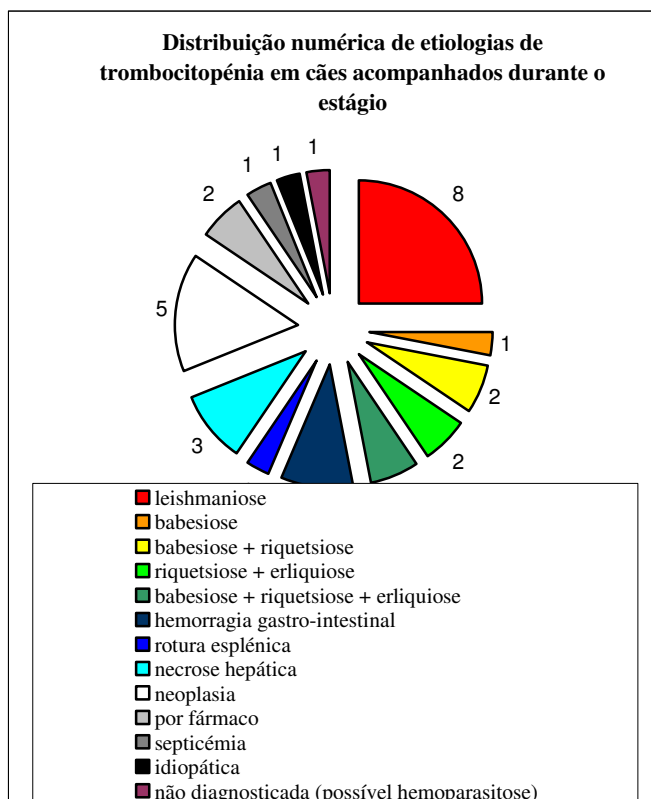
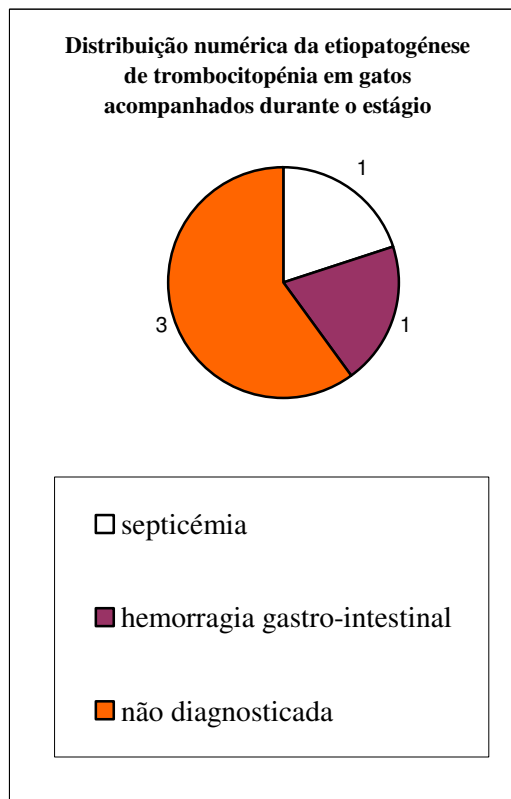
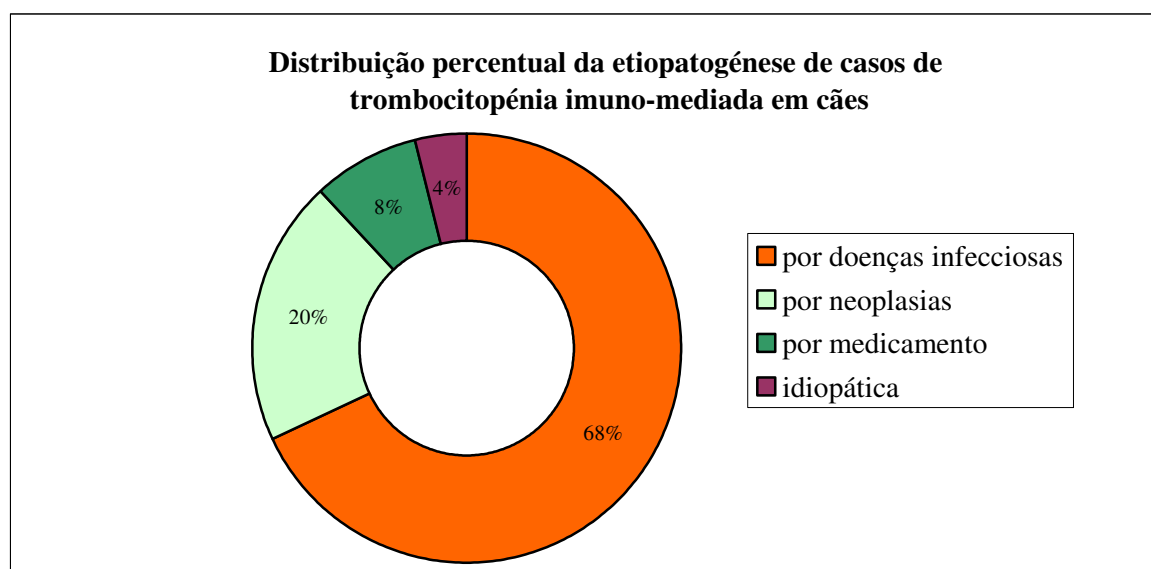


Gráfico 2 – Distribuição por etiologia dos casos de trombocitopénia observados em gatos, em valores absolutos.



Na amostra de cães com trombocitopénia, a etiologia da destruição imuno-mediada vem discriminada no gráfico 3 em valores percentuais. Não são incluídos os casos de cães com trombocitopénia devida a hemorragias, qualquer que seja o tipo de hemorragia, nem os casos de necrose hepática e septicémia. Como se referiu ao longo da revisão bibliográfica, a TIM pode ser primária ou secundária a vários mecanismos. Neste âmbito, verificou-se a ocorrência de situações idiopáticas, secundárias a infecções, secundárias a neoplasias e secundárias a medicamentos (Gráfico 3). Não foi observado durante o estágio nenhum caso de TIM secundária a vacinação, transfusão, ou doença auto-imune.

Gráfico 3 – Distribuição percentual da etiopatogenia da trombocitopénia em cães observados durante o estágio.



Vão em seguida ser discutidos apenas 3 casos clínicos em cães, que representam três mecanismos de trombocitopénia imuno-mediada observados: TIM idiopática, TIM secundária a infecção e TIM secundária a neoplasia. A razão para escolher apenas três casos clínicos entre os acompanhados é o facto de os procedimentos de diagnóstico e de terapêutica terem sido razoavelmente aplicados nestes animais, isto é, os proprietários colaboraram numa abordagem médica correcta e seguiram rigorosamente as medidas terapêuticas propostas. Além disso, os outros animais com TIM acompanhados, mas não incluídos nesta apresentação ou tinham um protocolo de diagnóstico pouco sustentado ou seriam repetições dos casos que são discutidos.

2 – CASOS CLÍNICOS

2.1 – CASO DE TIM PRIMÁRIA

2.1.1– Anamnese: Pequinhês, fêmea, 5 anos, inteira, 4,5 kg. Tem acesso ao exterior.

História de DAPP, insuficiência hepática recorrente desde há 3 anos, reacção de abcedação à vacina *Pneumodog* e pseudogestações frequentes. Encontra-se vacinada (*Vanguard 7*, *Raiva* e *KC*) e desparasitada e actualmente faz uma alimentação para insuficiência hepática. Sempre foi acompanhada na clínica Vetarrábida.

Vem à consulta por uma nova pseudogestação. Apresenta-se deprimida e os donos referem anorexia desde há 2 dias. Só ingere água. O último estro foi há 2 meses. Não tem secreção mamária.

2.1.2 – Plano de diagnóstico e Resultados: Tendo em conta a história desta paciente, realizam-se análises de controlo hepático e hemograma, bem como outras provas bioquímicas da função renal e pancreática e um ionograma. É ainda submetida a uma ecografia abdominal.

O hemograma e provas associadas não tinham alterações e as outras bioquímicas estavam dentro do normal (creatinina, proteínas totais, globulinas e albuminas, AST, FAS, GGT, glucose), excepto a ureia (ligeiramente aumentada devido à anorexia) e a ALT (também ligeiramente aumentada). O ionograma mostra hiponatrémia compatível com a polidipsia decorrente da doença hepática (141 mmol/L quando o intervalo de referência do nosso aparelho se situa entre 144 e 160 e a hiponatrémia é definida na bibliografia por valores inferiores a 140 mmol/L). O potássio e o cloro estão dentro da normalidade. O rácio sódio/potássio é de 34,4.

A ecografia abdominal confirma que não existe gestação real nem nenhuma alteração a nível uterino. Os rins e baço estão normais; o intestino que é possível observar está vazio e sem anomalias; o estômago está contraído e vazio; o fígado tem a dimensão normal e a ecogenicidade normal; a vesícula biliar apresenta-se um pouco aumentada e com um conteúdo homogéneo de hipoeogenicidade normal.

É planeada uma OVH para daí a 2 semanas. Na consulta pré-cirúrgica repetem-se o hemograma e as análises bioquímicas, e a única alteração é uma trombocitopenia ligeira (152.000/ μ L; MPV 10,15 fL; PDW 20,0%). Os valores habituais da contagem de plaquetas desta cadela situavam-se acima de 300.000/ μ L. O estado clínico da cadela é normal, mas a cirurgia é adiada e envia-se sangue para laboratório para pesquisa de anticorpos contra as doenças transmitidas por ixodídeos.

Dois dias depois são recebidos os resultados do laboratório - negativos para todos os microorganismos pesquisados (*Ehrlichia canis*, *Babesia canis* e *Rickettsia conorii*).

É repetido o hemograma, mas não existe nenhuma variação eritrocitária ou das linhas leucocitárias. Apenas se regista um agravamento da trombocitopénia para 79.000 plaquetas/ μ L (MPV 9,49 fL; PDW 23,3%). O MPV diminuiu, o que é frequente na TIM, e o PDW aumentou, o que indica que há anisocitose plaquetária. Esta variação de dimensão das plaquetas pode dever-se a libertação medular de macroplaquetas, o que corresponde a uma resposta regenerativa medular dos megacariócitos.

2.1.3 – Terapêutica e Controlo: Assume-se que existe uma trombocitopénia imuno-mediada primária e inicia-se uma corticoterapia imunossupressora com prednisolona oral 1 mg/kg bid durante um mês, precedida por sucralfato *per os* e é marcada uma consulta de controlo para daí a um mês.

Repetiu-se o hemograma e provas associadas e constatou-se a normalização do número de plaquetas (201.000/ μ L; MPV 12.39 fL; PDW 19,2%). Verificou-se o aumento do MPV, que coincide com uma resposta regenerativa medular, portanto reduziu-se progressivamente a corticoterapia e voltou 1 mês depois para nova avaliação. A contagem de plaquetas continuou a subir (227.000/ μ L; MPV 11,64 fL; PDW 19,1%) e considerou-se controlada a TIM primária. Foi novamente planeada a OVH que se efectuou sem complicações.

No mês seguinte voltou para novo controlo sanguíneo e obtiveram-se resultados idênticos ao último.

Marcou-se novo controlo passados 3 meses e daí em diante a cada 6 meses.

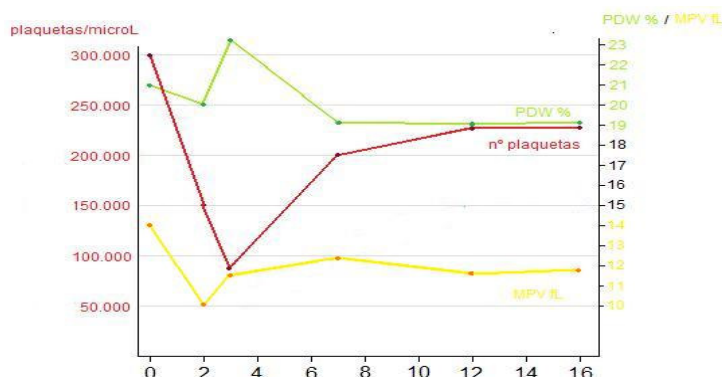
2.1.4 – Discussão: A trombocitopénia ocorreu num curto espaço de tempo, mas não foi dramática e não se manifestou clinicamente por um quadro hemorrágico. Os sinais de apresentação foram inespecíficos. No entanto, quando se compara qualquer dos hemogramas deste animal com determinações anteriores (há 2 ou mais anos), as mais recentes contagens de plaquetas e MPV são sempre mais baixos que nos anos anteriores.

Tem de se considerar que anticoagulante usado foi o EDTA, que como se sabe provoca uma ligeira elevação do MPV. Não se estimou a dimensão das plaquetas no esfregaço, e talvez por isso o MPV está inicialmente dentro dos valores de referência. Todos os valores de MPV estão, portanto, sobre-estimados. O aparecimento da trombocitopénia está associado a uma diminuição do volume celular, rapidamente seguido pelo aparecimento de uma população de plaquetas macrocíticas que faz aumentar discretamente o MPV (Gráfico 4). Como não se realizou o

esfregação de sangue não se chega a confirmar a anisocitose plaquetária, que costuma ocorrer 3 a 5 dias após o início de uma TIM primária e que representa a resposta medular perante um decréscimo na massa de plaquetas em circulação.

Seria recomendada a pesquisa serológica ou por PCR de outros agentes infecciosos indutores de TIM, nomeadamente o *Anaplasma platys*, e ainda a confirmação dos resultados serológicos negativos para os microorganismos pesquisados de início (confirmação de ausência de anticorpos 3 semanas após a primeira pesquisa). Com a introdução do tratamento imunossupressor (às 3 semanas no gráfico 4), a contagem de plaquetas eleva-se significativamente, o que está associado à continuação do aumento do MPV. A população plaquetária passa a ser constituída por células maiores e mais uniformes quanto ao tamanho (descida do PDW). O animal nunca apresentou evidências de hemorragia, nem hemorragia excessiva durante a cirurgia. Uma semana após a cirurgia tinha recuperado o apetite e o nível de actividade física e interactividade habituais.

Gráfico 4 – Evolução dos indicadores relativos às plaquetas no animal do caso de TIM primária, ao longo de 16 semanas.



Não se encontrou nenhuma justificação para o aparecimento da trombocitopénia, ou seja:

- não foi induzida pelos agentes infecciosos mais prevalentes na região
- não foi induzida por vacinas virais (a última vacinação foi há 4 meses) nem por fármacos
- não há evidência de neoplasias, alterações esplénicas, necrose hepática aguda, alterações metabólicas ou patologia auto-imune
- não se procedeu à transfusão de produtos ou derivados de sangue
- não há hemorragia evidente ou oculta nem resposta inflamatória no hemograma

Apesar de ter havido remissão, o diagnóstico foi mais terapêutico do que por exclusão. Na altura da colheita de sangue e envio para detecção de anticorpos contra as doenças transmitidas por vectores poderia ainda existir uma infecção aguda sem produção de IgG (período pré-seroconversão). Estas análises deveriam ter sido repetidas 2 ou 3 semanas depois da 1ª pesquisa para garantir a inexistência de infecção, no caso de não ter havido resposta ao tratamento.

O diagnóstico de trombocitopénia imuno-mediada primária é sustentado pelos seguintes dados:

- caracterização do animal e história coerente com um processo de TIM primária (fêmea, meia-idade, em pseudogestação)
- sinais inespecíficos aquando da apresentação clínica (anorexia e astenia)
- quadro desencadeado por uma situação perturbadora (pseudo-gestação e pseudo-parto associados a uma modificação hormonal)
- trombocitopénia moderada associada à diminuição do MPV e do PDW
- rápida resposta ao tratamento imunossupressor, caracterizada pelo aumento do MPV

Para melhor confirmação do diagnóstico estaria indicado apurar outras informações através de provas de coagulação, biópsia medular (possivelmente com testes imunológicos), biópsia hepática e esplénica; pesquisa de anticorpos anti-plaquetários e doutros agentes infecciosos. Contudo, os proprietários não podiam suportar os custos dum diagnóstico perfeito e preferiram tentar um tratamento farmacológico, menos dispendioso e com probabilidade de funcionar.

Perante as circunstâncias, se a condição recidivar o passo inicial é instituir a mesma corticoterapia imunossupressora, mas não se exclui a necessidade de repetir as análises serológicas para as doenças transmitidas por vectores, a ecografia abdominal e se necessário as biópsias dos tecidos alterados. Os proprietários foram informados da gravidade desta afecção e alertados para a possível recidiva. No entanto, estão conscientes de que a instalação do processo pode ser clinicamente silenciosa, com sinais inespecíficos como a perda de apetite ou letargia, excepto se ocorrer um episódio traumático que origine uma hemorragia profusa.

2.2 – CASO DE TIM SECUNDÁRIA A INFECÇÃO (Associada a AHIM e CID)

2.2.1 – Anamnese: Cruzada de Labrador, fêmea, 9 anos, inteira, 27 kg. Vive sempre no exterior. Tem displasia de anca bilateral (actualmente em grau D) e faz medicação com protectores articulares (glicosaminoglicanos e ácido hialurónico). É obesa (condição corporal 4).

Encontra-se desparasitada com *Dosolid* (há 2 meses), e vacinada com *Vanguard 7* e *Rabisin* (há 6 meses). Não faz uma prevenção regular para ectoparasitas nem leishmanioses.

Vem à clínica desde há 6 anos. Realiza anualmente o despiste de leishmaniose. Já obteve dois resultados positivos em testes rápidos (ELISA) e um resultado positivo em IFI, mas apenas uma vez manifestou clinicamente a doença na sua forma cutânea e fez o tratamento leishmanicida. Também faz anualmente despiste de doenças transmitidas por carraças uma vez que vive em

liberdade numa quinta com outros cães. Já apresentou erliquiose clínica duas vezes e fez o tratamento adequado.

Veio à consulta porque sofreu uma hemorragia gengival enquanto roía um toro de madeira. Pretende-se também realizar o controlo de saúde anual.

2.2.2 – Plano de diagnóstico (1ª parte): Ao exame físico apenas se identificaram erosões nas mucosas gengival e labial. Realizou-se o hemograma, provas associadas e análises bioquímicas de controlo renal e hepático (coluna “1ª consulta” do quadro 7). Tinha uma ligeira elevação das globulinas (4,9; máximo 4,5 g/dL) que o médico veterinário que a assistiu atribuiu ao facto de a cadela ser seropositiva à leishmaniose. Prescreveu-se antibiótico *per os* e uma solução de lavagem oral e combinou-se nova visita no caso de surgirem outros sinais que pudessem sugerir o recrudesimento da infecção por *Leishmania infantum*.

Na semana seguinte regressa após ter tido dois episódios de vômito hemorrágico. O exame físico revelou desidratação ligeira com TRC normal. A cavidade oral estava normal, sem as anteriores erosões. O animal apresentava ligeira hipertermia (39,2° C). A palpação abdominal não incitava dor; o estômago estava repleto. Colheu-se sangue para hemograma, provas associadas, ureia e creatinina, AST, ALT, GGT, globulinas e albuminas e ionograma (coluna “pré-internamento” no quadro 7). Realizou-se uma radiografia abdominal que apenas evidenciava distensão gástrica por alimento.

2.2.3 – Discussão (1ª parte):

As análises sanguíneas não mostravam desvios, à excepção das globulinas (que mantinham o valor elevado como anteriormente) e do sódio (hipernatrémia muito ligeira: 161 quando o máximo é 160 mmol/L). Assumindo um estado de desidratação ao exame físico, seria de esperar que, além de hipernatrémia, a hemoconcentração pudesse traduzir-se em aumentos de hematócrito e proteínas totais. O valor das proteínas totais estava igual ao anterior e, mesmo assumindo alguma desidratação, não se consideraria hiperproteinémia (apenas existe uma real hiperglobulinémia). No entanto notava-se que todos os valores das linhas sanguíneas estavam mais baixos que na última análise, apesar de a cadela se encontrar mais desidratada que na primeira consulta. Havia uma diminuição real dos valores de todas as linhas celulares. O MPV tinha diminuído significativamente (a par dum PDW menos alargado), como acontece na maioria das situações de imuno-mediadas.

2.2.4 – Terapêutica (1ª parte): Foi internada com fluidoterapia, cobertura antibiótica de largo espectro, anti-eméticos e anti-hemorrágico, tudo por via parenteral, e ficou sob vigilância.

Quadro 7 - Parâmetros hematológicos e bioquímicos alterados no animal do caso clínico de TIM secundária a infecção.

Parâmetros alterados	1º consulta	pré-internamento	pós-internamento	Limites de Referência
Eritrócitos milhões/ μ L	6,87	5,98	3,50	5,50 - 8,50
Hematócrito %	46,9	40,9	23,5	37,0 - 55,0
MCV (VCM) fL	68,3	68,3	67,2	60,0 - 77,0
MCH (HCM) pg	27,47	27,88	29,21	18,5 - 30,00
RDW %	15,9	16,1	16,0	14,7 - 17,9
HGB (CHCM) g/dL	não determinado	16,7	10,2	12,0 - 18,0
% Reticulócitos	0,4	0,7	0,6	-
Reticulócitos milhares/ μ L	30,7	39,9	21,4	-
Leucócitos milhares/ μ L	12,93	7,82	10,49	5,50 - 16,90
Neutrófilos milhares/ μ L	7,72 (59,7%)	4,58 (58,5%)	7,39 (70,4%)	2,00 - 12,00 (69%)
Linfócitos milhares/ μ L	3,79 (29,3%)	2,30 (29,4%)	1,28 (12,2%)	0,50 - 4,90 (20%)
Monócitos milhares/ μ L	0,99 (7,7%)	0,73 (9,3%)	1,59 (15,1%)	0,30 - 2,00 (6%)
Eosinófilos milhares/ μ L	0,39 (3,0%)	0,17 (2,2%)	0,19 (1,8%)	0,10 - 1,49 (5%)
Basófilos milhares/ μ L	0,04 (0,3%)	0,05 (0,6%)	0,06 (0,5%)	0,00 - 0,10 (0,5%)
Plaquetas milhares/ μ L	239	201	19	175 - 500
MPV fL	10,43	6,62	*	7,5 - 10
PDW %	23,7	19,5	*	-
Proteínas Totais g/dL	7,6	7,6	5,7	5,2 - 8,2
Albuminas g/dL	2,7	2,8	1,8	2,3 - 4,0
Globulinas g/dL	4,9	4,9	3,9	2,5 - 4,5
Sódio mmol/L	159	161	156	144 - 160

*valores impossíveis de determinar, dada a escassez de plaquetas

2.2.5 – Plano de diagnóstico (2ª parte): Durante dois dias a cadela não vomitou e a temperatura corporal normalizou, mas manifestou anorexia. Por fim surgiram petéquias na mucosa oral e equimoses abdominais e costais, ao que se seguiram melena e hemorragia excessiva às injeções e venopunções. Persistia a anorexia e a depressão. As mucosas tornavam-se progressivamente mais pálidas. O quadro clínico indicava uma anemia aguda acompanhada por uma alteração de coagulação primária. Repetiu-se o hemograma, provas associadas e bioquímicas sanguíneas e apuraram-se novas informações relevantes para o diagnóstico e tratamento. Os parâmetros

alterados vêm indicados na coluna “pós-internamento” do quadro 7. As transaminases hepáticas tinham valores dentro dos limites considerados normais.

Requisitaram-se pesquisas de anticorpos para *Leishmania spp*, *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* e *Rickettsia conorii* acompanhadas por um proteinograma.

Face à gravidade e agudez da anemia e da trombocitopénia, e antes de se fazer qualquer tratamento específico destes problemas, requisitaram-se o teste de Coombs directo e as análises de coagulação a um laboratório externo. Estes resultados só foram recebidos 2 dias depois pelo que estão descritos no ponto 2.2.7. Até essa altura o tratamento manteve-se como anteriormente, com o objectivo de prevenir hemorragias e septicémia. Determinou-se ainda a concentração de ureia sérica e o rácio proteína/creatinina urinária. A ureia encontrava-se no intervalo normal ($7 < 24 < 27$ mg/dL). A UPC era inferior a 0,5 (proteína 32 mg/dL / creatinina 70 mg/dL = 0,46). Decidiu-se repetir a medição da ureia e da UPC 2 semanas depois, mas não se fez por questões económicas.

2.2.6 – Discussão (2ª parte): Avaliando os valores do hemograma, e atendendo ao facto de poder existir alguma hemodiluição consequente à fluidoterapia (cerca de 80 ml/hora), conclui-se que há uma anemia hemolítica aguda moderada, normocítica e normocrómica (sem policromasia), não regenerativa (IPR = 0,31). A hemodiluição pode estar a mascarar a reposta inflamatória, porque por enquanto não há leucocitose. Contudo verifica-se um aumento relativo da população de neutrófilos e monócitos, e uma diminuição também relativa dos linfócitos.

Em simultâneo há uma trombocitopénia muito severa, que se manifesta por hemorragias espontâneas. Se considerarmos que há hemodiluição, a contagem real de plaquetas não é inferior a 20 mil/ μ L, mas seguramente não ultrapassa os 30 mil porque esse é o limite para a manifestação de hemorragia espontânea. O aparelho *Lasercyte* foi incapaz de avaliar a dimensão das plaquetas e não foi realizado um esfregaço. No entanto, decorridos 2 ou 3 dias desde o início da afecção imuno-mediada, seria de esperar que já existisse produção de plaquetas de maior dimensão.

Embora possa existir hemodiluição, a hipoalbuminémia é real e acabaria por manifestar-se mais tarde por edemas.

Não existia proteinúria significativa (atendendo a que não havia azotémia nem sedimento urinário activo). A hipoalbuminémia não se devia à perda urinária, mas sim à perda para o terceiro espaço decorrente da vasculite. Descartou-se uma possível glomerulonefrite que poderia ser uma manifestação de doença auto-imune.

Não havendo novas informações que auxiliassem no diagnóstico, por precaução, a cadela foi colocada num ambiente protegido e restringido, atraumático; os tratamentos intravasculares faziam-se sem grande prejuízo pelo catéter, mas as injeções subcutâneas e intramusculares, bem como as recolhas de sangue, eram feitas cuidadosamente com agulha fina, seguida de compressão no local de administração. Os sinais vitais eram frequentemente monitorizados.

2.2.7 – Resultados dos meios de diagnóstico: São recebidos simultaneamente os resultados de todas as análises requisitadas ao laboratório. A única prova serológica positiva é a IFI para *Rickettsia conorii* no título 1/40 (negativo a 1/80). Verificou-se a seronegativação para *Leishmania* spp. O proteinograma indica hipoalbuminémia e hipergamaglobulinémia (a hipoalfaglobulinémia é discreta e pode dever-se a hiperhidratação) (Quadro 8). A Taxa de Protrombina era de 150% (esperado >70%) (este laboratório calcula o tempo de protrombina, mas converte o resultado em percentagem, sendo que o valor de referência normal mínimo é 70%). Um resultado de 150% significa que o tempo de protrombina está duplicado em relação ao mínimo normal). O tempo de tromboplastina (PTT) estava aumentado (15 segundos; máximo 10). A concentração de fibrinogénio estava extremamente elevada (1004 mg/dL; normal entre 200 e 400). O teste de Coombs directo deu um resultado negativo.

Quadro 8 – Representação dos resultados do proteinograma do animal do clínico de TIM secundária a infecção.

	g/dL	%	Limites
Proteínas Totais	5,30	-	5,20 - 7,20 g/dL
Albuminas	1,63	30,8	41,0 - 56,0 %
Alfa 1	0,30	5,8	5,9 - 9,8 %
Alfa 2	0,80	15,1	9,0 - 15,2 %
Beta	1,16	22,0	6,2 - 26,0 %
Gama	1,41	26,3	7,0 - 13,3 %
A / G	0,45	-	0,6 - 1,1

2.2.8 – Discussão (3ª parte): Confirmou-se uma infecção por *R. conorii*, mas sendo um “positivo fraco” tanto pode significar infecção recente, como reacção cruzada com outras espécies deste género. A confirmação implicaria repetir a serologia para *R. conorii* ao fim de algum tempo ou executar um PCR que identifica cada espécie do género *Rickettsia*. O laboratório consultado não dispõe de serologia de *Rickettsia rickettsii*. Outra interpretação possível para um resultado “positivo fraco é a fraca resposta humoral devido a um estado de imunodepressão possível nos pacientes geriátricos, mas esta hipótese é descartada com o proteinograma, onde se regista hipergamaglobulinémia. De qualquer forma não se excluem as possibilidades de infecção por

outros agentes, já que as serologias não foram repetidas e a infecção não pode ser diagnosticada por serologia antes que ocorra seroconversão. As estirpes de *Rickettsia conorii* diagnosticadas na clínica veterinária onde decorreu o estágio geralmente não produzem um quadro clínico tão dramático. A infecção pode ter sido favorecida por algum evento de imunossupressão e degenerou em vasculite, anemia hemolítica e trombocitopénia imuno-mediadas e por fim em CID subaguda.

Tanto em termos clínicos, como em termos laboratoriais, não se encontraram de início todas as alterações características CID, porque ela foi secundária a um processo infeccioso progressivo. Ocorreu anemia hemolítica, de início não regenerativa, mas mais tarde regenerativa, com grande quantidade de reticulócitos; trombocitopénia muito severa; neutrofilia (não foi avaliado o esfregaço como tal não se pode confirmar a existência de um desvio à esquerda); hipoalbuminémia em vez da pan-hipoproteinémia prevista numa CID em pleno decurso; ainda não havia indicadores de microembolização orgânica (função renal, hepática e equilíbrio ácido-base dentro da normalidade). O perfil de coagulação indicava uma alteração hemostática atingindo todas as vias: Taxa de protrombina aumentada para mais do dobro (ou por redução dos factores da via extrínseca e comum ou por inibição da coagulação devida a excesso de PDF ou por ambos); Tempo de Tromboplastina Parcial Activada aumentado em 50% (ou por redução dos factores da via intrínseca/comum, ou por inibição da coagulação pelos PDF, ou ambos). O aumento destes dois indicadores, PT e APTT, em mais de 25% foi a confirmação do perigo de de CID, mesmo antes de ela se manifestar plenamente. A concentração de fibrinogénio estava elevada. O aumento traduz a existência duma inflamação aguda. Na CID instalada a concentração do factor I está diminuída. Esta informação tornou-se preciosa para prevenir as consequências da desordem de coagulação mista.

O teste de Coombs negativo não exclui a hipótese de anemia/trombocitopénia imuno-mediadas.

2.2.9 – Terapêutica (2ª parte): Para colmatar a trombocitopénia e a hipoalbuminémia, e de alguma maneira elevar a contagem de eritrócitos, efectuou-se uma transfusão de sangue inteiro fresco (recém colhido) e iniciou a terapêutica com heparina de baixo peso molecular (enoxeparina) 1 mg/kg (= 100 UI/kg) bid. Suspendeu-se parte do tratamento antibiótico (ficou apenas com enrofloxacin com alguma actividade contra *Rickettsia* spp. outras bactérias gram negativas). No final da transfusão repetiram-se as análises sanguíneas (no Quadro 9 em “1ª transfusão”), incluindo as bioquímicas renais e hepáticas (valores dentro do normal e por isso omissos no quadro).

Quadro 9 - Atualização dos parâmetros hematológicos e bioquímicos alterados no animal do caso de TIM secundária a infecção.

Parâmetros alterados	1ª consulta	pré-intern.	pós- intern.	1ª trans-fusão	2ª trans-fusão	último controlo	Limites de referência
Eritrócitos milhões/ μ L	6,87	5,98	3,50	1,95	2,80	3,16	5,50 - 8,50
Hematócrito %	46,9	40,9	23,5	13,6	19,6	22,6	37,0 - 55,0
MCV fL	68,3	68,3	67,2	69,6	70,2	71,5	60,0 - 77,0
MCH pg	27,47	27,88	29,21	35,9	32,12	29,91	18,5 - 30,00
RDW %	15,9	16,1	16,0	18,4	18,9	19,5	14,7 - 17,9
HGB g/dL	-	16,7	10,2	7,0	9,0	9,4	12,0 - 18,0
% Reticulócitos	0,4	0,7	0,6	3,9	3,4	4,4	-
Reticulócit milhares/ μ L	30,7	39,9	21,4	76,7	96,0	139,3	-
Leucócitos milhares/ μ L	12,93	7,82	10,49	24,47	26,67	22,98	5,50 - 16,90
Neutrófilos milhares/ μ L	7,72 (59,7%)	4,58 (58,5%)	7,39 (70,4%)	17,47 (71,4%)	20,57 (77,1%)	19,07 (83%)	2,00 - 12,00 (69%)
Linfócitos milhares/ μ L	3,79 (29,3%)	2,30 (29,4%)	1,28 (12,2%)	3,95 (16,1%)	2,85 (10,7%)	1,50 (6,5%)	0,50 - 4,90 (20%)
Monócitos milhares/ μ L	0,99 (7,7%)	0,73 (9,3%)	1,59 (15,1%)	2,45 (10,0%)	2,53 (9,5%)	1,87 (8,1%)	0,30 - 2,00 (6%)
Eosinófilos milhares/ μ L	0,39 (3,0%)	0,17 (2,2%)	0,19 (1,8%)	0,48 (2,0%)	0,57 (2,2%)	0,40 (1,7%)	0,10 - 1,49 (5%)
Basófilos milhares/ μ L	0,04 (0,3%)	0,05 (0,6%)	0,06 (0,5%)	0,13 (0,5%)	0,15 (0,6%)	0,14 (0,6%)	0,00 - 0,10 (0,5%)
Plaquetas milhares/ μ L	239	201	19	44	140	130	175 - 500
MPV fL	10,43	6,62	*	10,04	7,29	7,95	7,5 - 10
PDW %	23,7	19,5	*	22,7	19,9	19,9	-
PCT %	0,3	0,1	*	0,0	0,1	0,1	-
Proteínas Totais g/dL	7,6	7,6	5,7	4,8	-	7,2	5,2 - 8,2
Albuminas g/dL	2,7	2,8	1,8	1,7	-	2,7	2,3 - 4,0
Globulinas g/dL	4,9	4,9	3,9	3,1	-	4,5	2,5 - 4,5
Sódio mmol/L	159	161	156	154	-	-	144 - 160

No dia seguinte a cadela continuava deprimida e com as mucosas pálidas e apresentava zonas de edema latero-ventral no abdómen. Ainda assim, tinha recuperado o apetite. Repetiu-se a transfusão de sangue e em seguida o hemograma e provas associadas (Quadro 9 “2ª transfusão”). A cadela continuou internada e a receber os mesmos tratamentos durante 2 semanas. Nesse espaço de tempo fez 2 controlos hematológicos e bioquímicos que confirmaram a sua progressiva recuperação (“último controlo”) (Quadro 9). O hematócrito aumentou gradualmente,

com uma importante regeneração medular. A resposta leucocitária e a trombocitopénia mantiveram-se, uma vez que a infecção ainda não tinha sido erradicada. Pelo menos a contagem de plaquetas colocava a cadela fora de perigo de hemorragia excessiva e permitiu libertá-la do internamento. As enzimas hepáticas e renais nunca ultrapassaram os valores de referência. A cadela voltou para casa, tendo sido receitada doxiciclina (10 mg/kg bid) em comprimidos para 4 semanas de tratamento (e não para apenas 2 semanas como é hábito nos processos de riquetsiose) e anti-anémicos por via oral.

Voltou novamente à consulta para repetir as análises ao fim de 1 mês e a maioria dos parâmetros avaliados estava dentro do normal, inclusivamente os valores plaquetários (194 mil/ μ L; MPV 12,35 fL; PDW 20,3%). Apenas o hematócrito se encontrava ainda abaixo do normal.

2.3 – CASO DE TIM SECUNDÁRIA A NEOPLASIA

2.3.1 – Anamnese: Rottweiler, macho inteiro, 10 anos, 35 kg, condição corporal 2.

Foi referenciado para uma consulta de ortopedia. Claudicação de grau IV do membro anterior direito. Aparecimento progressivo desde há 2 meses. Já foi medicado com anti-inflamatórios esteróides e não esteróides. Anorexia há 3 dias. Perda de condição corporal (de CC 3,5 para 2). Obteve resultados negativos para a pesquisa anticorpos das hemoparasitoses vectoriais.

2.3.2 – Plano de diagnóstico e Resultados (1ª parte): O exame ortopédico não provocava dor em nenhum componente osteo-articular ou muscular. Contudo o cão não apoiava o membro. Durante a locomoção, o membro era mantido em ligeira flexão e abdução. O exame neurológico revelou um quadro de motoneurónio inferior no membro anterior direito, mas sem outras alterações. Os outros membros estavam normais, bem como todos os reflexos e nervos cranianos. O animal não tinha distúrbios mentais ou comportamentais.

Suspeitou-se de traumatismo do plexo braquial e efectuou-se o hemograma e bioquímicas para avaliar o efeito da terapêutica anti-inflamatória realizada até ao momento (Quadro 10). Encontrou-se lesão e colestase hepáticas. Concomitantemente existiam anemia ligeira e trombocitopénia moderada. Decidiu-se suspender a medicação anti-inflamatória até resolver a insuficiência hepática e requisitar novamente serologia das doenças transmitidas por vectores que poderiam ser responsáveis pelas alterações hematológicas e co-responsáveis pelas lesões hepáticas.

Quadro 10 - Parâmetros hematológicos e bioquímicos alterados
no animal do caso clínico de TIM secundária a neoplasia.

Parâmetro alterado	1ª consulta	2ª consulta	Limites de Referência
Eritrócitos milhões/ μ L	4,95	3,79	5,50 – 8,50
HCT %	32,3	26,5	37,0 – 55,0
HGB g/dL	11,8	10,7	12,0 – 18,0
MCV (VCM) fL	67,4	69,9	60,0 – 77,0
MCH pg	27,07	28,36	18,50 – 30,00
RDW %	16,0	16,0	14,7 – 17,9
Reticulócitos %	0,6	0,5	-
Reticulócitos milhares/ μ L	24,2	19,1	-
Leucócitos milhares/ μ L	8,80	9,23	5,50 – 16,90
Neutrófilos milhares/ μ L	5,05 (57,4%)	6,38 (69,1%)	2,00 – 12,00 (69%)
Linfócitos milhares/ μ L	2,52 (28,6%)	1,28 (13,9%)	0,50 – 4,90 (20%)
Monócitos milhares/ μ L	1,01 (11,5%)	1,19 (12,9%)	0,30 – 2,00 (6%)
Eosinófilos milhares/ μ L	0,17 (2,0%)	0,35 (3,8%)	0,10 – 1,49 (5%)
Basófilos milhares/ μ L	0,05 (0,5%)	0,03 (0,3%)	0,00 – 0,10 (0,5%)
Plaquetas milhares/ μ L	148	151	175 – 500
MPV fL	7,22	6,55	7,5 – 10
PDW %	20,3	19,9	-
ALT U/L	-	70	10 – 100
AST U/L	217	94	0 – 50
GGT U/L	15	6	0 – 7
FAS U/L	1084	682	23 – 212

2.3.3 – Discussão (1ª parte):

- Está presente uma anemia não regenerativa, normocítica e normocrômica, compatível com um processo crônico. Pode corresponder a anemia de doença crônica, neste caso provavelmente por lesão hepática, uma vez que as análises bioquímicas dos outros sistemas orgânicos estavam normais.
- Não há leucocitose, mas encontra-se linfocitose e monocitose relativas, compatíveis também com corticoterapia.
- A trombocitopénia acompanha-se por um volume plaquetário diminuído, apesar de existir anisocitose plaquetária (PDW aumentado). A diminuição do MPV é compatível com destruição imuno-mediada das plaquetas.

- As enzimas hepáticas avaliadas na 1ª consulta encontram-se com níveis aumentados. A ALT não foi medida na primeira consulta, embora seja um melhor indicador da lesão hepatocelular do que a AST (esta pode provir doutras células além dos hepatócitos). Estes aumentos são os esperados na hepatopatia induzida por fármacos. A elevação da AST 5 vezes acima do normal corresponde a lesões moderadas do parênquima. A GGT e a FAS aumentadas indicam colestase, consequente à corticoterapia prolongada.

2.3.4 – Terapêutica (1ª parte): O animal foi para casa medicado com ácido ursodesoxicólico 18 mg/kg PO sid (*Destolit* 3,5 comprimidos), S-adenosilmetionina 20 mg/kg bid (*Denosyl* 425 1 comprimido bid) e um complexo de aminoácidos e destoxificantes hepáticos (*Samilyn* 4,5 g 1 saqueta bid). Recomendou-se uma alimentação mais palatável adequada a afecções hepáticas e renais.

2.3.5 – Plano de diagnóstico e Terapêutica (2ª parte): Voltou 2 dias depois para lhe serem comunicados os resultados serológicos e reavaliar o tratamento. Não se confirmou nenhuma hemoparasitose. Realizou-se uma ecografia abdominal e a única alteração era a nível hepático: mostrava uma ecogenicidade heterogênea aumentada, com um aspecto reactivo difuso. Não havia evidência de colestase severa (os canalículos biliares estavam apenas ligeiramente aumentados e a vesícula biliar estava normal em dimensão e conteúdo).

Perante estes resultados acrescentou-se ao anterior tratamento formulações específicas para manejo da anemia e suporte nutricional geriátrico com anti-oxidantes. A respeito da claudicação, decidiu-se manter o repouso e aguardar o restabelecimento do estado geral para iniciar fisioterapia e eventualmente tratamento anti-inflamatório.

O animal regressou à consulta 5 dias depois. O estado geral mantivera-se e a claudicação persistia. Repetiu-se o hemograma e análises bioquímicas, verificando-se um agravamento da anemia e a persistência de monocitose relativa. As enzimas hepáticas tinham valores inferiores aos iniciais portanto assumiu-se que a hepatopatia secundária aos glucocorticóides estaria a ser resolvida.

Pela primeira vez, realizou-se o exame físico completo. Nessa altura notou-se uma massa axilar direita subcutânea. Tinha 12 cm de diâmetro e cerca de 4 cm de altura, com bordos aplanados. Essa estrutura impedia que o membro anterior se mantivesse na posição fisiológica. A manipulação da massa não provocava dor, embora o cão fosse duma raça estóica. Antes que ocorresse um agravamento de todos os indicadores, planeou-se uma biópsia para o dia seguinte.

O cão foi pré-medicado com acepromazina e morfina, a indução anestésica fez-se com midazolam e propofol e a manutenção com isoflurano. A incisão na pele da região axilar, expôs uma

estrutura submuscular muito vascularizada e friável. A aparência macroscópica sugeria hemangiossarcoma ou linfoma. Fez-se a ressecção duma pequena amostra desse tecido, evitando provocar hemorragia. A amostra foi enviada para histopatologia. O cirurgião considerou inviável extrair a totalidade da neoformação, uma vez que originaria uma hemorragia potencialmente grave e havia o risco de lesão do plexo braquial. Desconhecendo o grau de invasão da neoformação a nível sistémico, seria ainda improdutivo remover uma massa com possíveis metástases.

O animal recuperou bem da cirurgia e teve alta no dia seguinte. O estado geral tinha melhorado e ficou marcada nova consulta quando se tivesse recebido o resultado da histopatologia. Até lá, faria antibioterapia pós-cirúrgica além da anterior medicação.

2.3.6 – Discussão (2ª parte): Como se conclui, a avaliação pré-cirúrgica foi muito incompleta. Por razões económicas não foi realizado um TAC para perceber o grau de invasão da estrutura a nível axilar, nem foi realizada nenhuma radiografia abdominal ou torácica. Estes exames seriam considerados apenas depois de saber a origem da estrutura e, em função disso, elaborar-se-ia o prognóstico e considerar-se-iam as alternativas de diagnóstico complementares e as opções terapêuticas.

2.3.7 – Resultados dos meios de diagnóstico e Terapêutica (3ª parte): Dois dias depois chega a informação que a massa é um tumor de células redondas de elevada malignidade. No material de biópsia não foi possível identificar nenhuma estrutura normal que permitisse identificar a proveniência da amostra. A neoplasia, não encapsulada, apresentava uma proliferação compacta de células anaplásicas, pleomórficas, compatíveis com mastócitos. Algumas células seriam binucleadas, com índice mitótico elevado (até 4 mitoses por campo de 400x). Foram identificadas células neoplásicas dentro dos vasos, o que sugere disseminação sanguínea. O diagnóstico provável era de tumor de mastócitos de grau III.

Neste contexto, o animal foi reavaliado por exame físico, mas não foi observada nenhuma lesão cutânea. Só existia aquela neoformação axilar subcutânea. Os proprietários do animal optaram por nem tomar conhecimento das possíveis metástases tumorais, provavelmente com localização hepática. Face a um prognóstico previsivelmente desfavorável, foi dispensada a realização duma TAC para confirmar o prognóstico e nem se realizou uma radiografia ou ecografia para saber minimamente o envolvimento sistémico do tumor. A elevada probabilidade de recidiva após recessão cirúrgica (entre 75 e 90%) dissuadiu os proprietários de tentar a cirurgia ou qualquer outra abordagem terapêutica. Mantiveram a convicção de o animal viveria os últimos tempos com uma vida o mais normal possível, e não a recuperar duma cirurgia de palição temporária.

Assim, o cão manteve-se em casa, medicado como até aí. O animal não voltou à consulta. Os proprietários vinham sem ele comunicar-nos a evolução do seu estado geral. Nessa semana o cão já não comeu nem se levantou para urinar ou defecar.

Uma semana e meia depois da biópsia, os proprietários solicitaram uma consulta ao domicílio. O quadro clínico agravara-se com síndrome de Horner. A invasão do sistema nervoso pela neoplasia traria em breve outras complicações. Portanto foi decidido eutanasiar o cão nesse dia, mas não foi autorizada a realização da necrópsia. Desde a primeira consulta na nossa clínica até à eutanásia decorreram 19 dias. Desde o início da claudicação contam-se 2 meses e meio.

2.3.8 – Discussão (3ª parte): Retrospectivamente, a consulta inicial não se deveria ter limitado a um exame de ortopedia e neurologia. Era necessário um exame físico preliminar e possivelmente já se detectaria linfadenopatia no linfonodo axilar direito. Se se soubesse que o problema original era um tumor de mastócitos seria indicado pesquisar meticulosamente qualquer evidência de lesão cutânea, quer no membro envolvido, quer na região do tronco adjacente ao linfonodo envolvido. Ainda assim poder-se-ia continuar sem encontrar nenhuma alteração cutânea.

Decorridos cerca de 2 meses desde o início da claudicação, altura em que o animal era consultado por um outro colega, havia grande probabilidade de o tumor já ter iniciado a disseminação. Provavelmente, quando o cão nos foi recomendado, o seu prognóstico já era desfavorável, mas mesmo assim, o processo passou despercebido de todos por mais 1 semana, até que um veterinário resolveu começar pelo princípio, pelo exame clínico completo, e encontrou uma massa já muito desenvolvida. Na clínica Vetarrábida não é habitual realizar citologias aspirativas (prefere-se a histopatologia a partir de uma biópsia recolhida sob sedação/anestesia). Caso contrário nesse mesmo dia teríamos a noção aproximada de que a massa era um tumor de células redondas, e correlacionaríamos esse achado com a monocitose relativa encontrada no hemograma. Na realidade, mais 2 dias para que a histopatologia informasse do teor da biópsia pouca diferença faziam no prognóstico. A histopatologia não é dispensável para a elaboração dum prognóstico de mastocitoma, mas podia-se ter dispensado o cão duma anestesia e duma pequena cirurgia se a citologia aspirativa tivesse desde logo indicado tratar-se dum mastocitoma.

A anemia e a trombocitopénia são síndromes paraneoplásicas, devidas à destruição e consumo destas células no tecido neoplásico. Além disso, os mastocitomas metastizam no fígado, baço e medula óssea, e nesse sentido contribuem para a diminuição das contagens celulares com destruição, sequestro e hipoplasia medular. O hemograma não revelava eosinofilia nem basofilia como estão descritas na bibliografia, mas a monocitose relativa devia direccionar-nos para a

observação dum esfregaço da camada flogística onde eventualmente seriam identificados mastócitos.

Não se avaliaram os tempos de coagulação neste cão, mas é possível que estivessem aumentados. Sabe-se que a CID, potencialmente co-responsável pela anemia e trombocitopénia, pode manifestar-se clínica ou subclínicamente em 10% dos tumores malignos.

O animal já tinha sido sujeito a uma dezena de radiografias ao membro anterior direito, sem que o colega que o assistia tenha identificado qualquer anomalia, portanto quando veio à nossa clínica dispensou-se a repetição de tais exames. A abordagem ideal implicava radiografar o tórax e o abdómen em busca de metástases; fazer biópsia hepática para saber se as anomalias bioquímicas e as alterações de ecogenicidade se deviam a metástases ou à hepatopatia por glucocorticóides; fazer uma biopsia medular para avaliar a presença de mielofitose; fazer uma TAC para avaliar o envolvimento muscular, da parede costal e dos nervos periféricos e com isso prever o prognóstico e ponderar a viabilidade da ressecção cirúrgica da massa.

A cirurgia não pareceu afectar particularmente o cão e ficou-se com uma amostra de tecido muito mais representativa. Quer fosse um mastocitoma, quer um hemangiossarcoma ou um linfoma como o cirurgião suspeitou, as alternativas cirúrgicas implicariam sempre amputar o membro e fazer recessão de bastante tecido costal. Não amputar naquela altura foi uma decisão sensata porque poderia ser inútil no caso de o quadro clínico se manter deteriorado à custa das metástases já existentes. O animal continuaria com um prognóstico desfavorável e além disso teria ficado mutilado. A recuperação cirúrgica seria muito mais complicada, estaria muito limitada a utilização de analgesia e o benefício global poderia ser o mesmo.

O tumor classificado em grau III tem inevitavelmente um prognóstico desfavorável que parece ser independente da medida terapêutica escolhida. Apesar de não se ter feito cirurgia, não havia vantagens em acrescentar mais fármacos à terapêutica porque o cão não vomitava, não apresentava hemorragia gastro-intestinal explícita nem coagulopatias. Só se confirmou anorexia, já que não foi pesquisado sangue oculto. Os proprietários não sabiam dizer se o cão apresentava sangue nas fezes e mantinham-no limpo, por isso quando se fez a consulta ao domicílio não se encontraram vestígios sangue. O cão já não comia, defecava raramente e não conseguia levantar-se.

A bibliografia indica que quando um animal com um tumor de mastócitos se apresenta com sinais gastro-intestinais, em cerca de 40% dos casos a esperança de vida é inferior a um mês (Fox, 2002). Este animal enquadra-se nesse grupo, apesar de a esperança de vida ter sido encurtada para 22 dias com a eutanásia. Se não tivesse sido eutanasiado viveria em degradação progressiva

por mais algum tempo. Prova disso é o aparecimento do quadro neurológico progressivo. A síndrome paraneoplásica de invasão de nervo periférico foi a causa inicial dum caso clínico que se enquadrou em ortopedia. O estímulo iatrogénico foi a claudicação, mas a patogénese não era ortopédica, mas sim neurológica. O efeito de compressão e invasão local que o tumor exercia no plexo braquial deu origem aos sinais de motoneurónio inferior. Até se perceber que existia essa massa o caso não foi encarado do ponto de vista neurológico. Posteriormente, o aparecimento de síndrome de *Horner* e de tetraparésia confirmou a extensão das metástases ao sistema nervoso central.

3 - CONCLUSÕES

A trombocitopénia é um sinal relativamente frequente nos cães a que se recolhe sangue para hemograma, entre os animais que se apresentam na clínica veterinária em que decorreu o estágio. Poucos gatos são submetidos a um hemograma porque os seus proprietários são mais renitentes em dispendir dinheiro em exames complementares de diagnóstico.

Ao contrário do que seria desejável, nesta clínica não é prática corrente observar esfregaços de sangue, logo o achado de trombocitopénia é feito por meios automatizados e raramente se efectuam confirmações de resultados ao microscópio. Outro erro constante, no que concerne à avaliação da trombocitopénia, é a determinação automatizada dos valores plaquetários quando o sangue foi tratado com EDTA: o MPV é sistematicamente sobre-estimado.

Durante o estágio verificaram-se situações de trombocitopénia devida aos diferentes mecanismos: diminuição da produção (não confirmada por biópsia medular, mas fortemente suspeitada em cães padecendo de erliquiose e em gatos suspeitos de infecção retroviral), excesso de consumo (hemorragias apresentadas por alguns animais, devidas a gastro-enterite hemorrágica, ulceração gástrica por corpos estranhos e rotura esplénica) e excesso de destruição (destruição directa e indirecta de plaquetas por agentes infecciosos, fármacos e produtos libertados pela necrose hepática). Embora esteja descrito que a hemorragia espontânea ocorre com valores de plaquetas inferiores a 30.000/ μ L, verificou-se que num cão epiléptico (sob efeito de terapêutica anti-convulsionante) de raça indeterminada, com 28.000 plaquetas/ μ L (determinação automatizada) não havia evidência de perda de sangue (trombocitopénia devida a lesão hepática crónica por fenobarbitúricos). No entanto não se realizou um esfregaço de sangue para averiguar a presença de agregação plaquetária.

Entre os fenómenos de destruição excessiva de plaquetas foi dado destaque à TIM, identificada pela diminuição do MPV num animal com trombocitopénia (apesar do incorrecto processamento da amostra com EDTA em vez de citrato). A bibliografia aponta como principal causa da TIM o fenómeno primário, idiopático, mas no contexto geográfico e populacional em que a clínica veterinária Vetarrábida se insere, têm muito mais relevo os agentes parasitários/infecciosos.

Na maioria dos casos seguidos ao longo do estágio a trombocitopénia está associada a processos infecciosos, sobretudo os que envolvem agentes transmitidos por ixodídeos e mosquitos. São comuns as infecções mistas por agentes transmitidos por esses vectores. A maior parte dos cães vive parcialmente no exterior, em terrenos não urbanizados e não faz uma prevenção anti-parasitária constante e completa. Não é de mais insistir para que os proprietários previnam estas doenças através de programas anti-parasitários e vacinais fundamentados. Doenças virais, como a parvovirose canina, são mais frequentemente diagnosticadas no Verão em cachorros não vacinados, e não Inverno, período em que decorreu o estágio. Duma maneira geral a população animal que é seguida na clínica, está adequadamente vacinada contra as doenças virais e leptospirose, mas só uma parte dessa população é sujeita a vacinação contra algumas estirpes de *Babesia* spp. e *Borrelia* spp. As situações de infecção bacteriana e septicémia foram constatadas em 2 animais (1 cadela com distócia prolongada e 1 gato politraumatizado), mas a casuística está provavelmente subestimada pela não realização de provas de diagnóstico laboratorial para confirmar a suspeita clínica de septicémia.

As neoplasias são a segunda maior causa para o aparecimento de TIM nos animais apresentados à consulta, mas no panorama geral raramente se verifica trombocitopénia exclusivamente por neoplasia (5 cães têm trombocitopénia em cerca de 60 cães que têm algum tipo de tumor).

A TIM primária que é considerada a mais prevalente segundo muitos autores, só foi diagnosticada num animal, entre os quase 350 animais acompanhados nos 4 meses de estágio. Pode justificar-se pela referida escassez de meios de diagnóstico definitivos, ou, mais provavelmente, pelo facto de os sinais inespecíficos que origina não serem motivo suficiente para os proprietários dos animais solicitarem uma consulta veterinária. Eventualmente estes animais serão consultados apenas quando manifestarem uma hemorragia excessiva ou espontânea. Outra razão para a escassez de casos de TIM idiopática é o reduzido número de animais com factores de risco de TIM primária (cadelas de meia-idade, de raças com predisposição (Cocker, Caniche e Old English Sheepdog), submetidas a situações estressantes).

Houve ainda 1 caso de TIM provavelmente secundário a fármaco (num cão sob efeito de anti-convulsivantes). Não houve confirmação deste caso de TIM porque o animal não podia ser mantido sem terapêutica e os proprietários optaram pela eutanásia.

Nos casos de TIM secundários a infecção em que se realizou novamente o hemograma após a terapêutica anti-infecciosa, verificou-se sistematicamente a normalização da contagem de plaquetas e a elevação do MPV. Contudo, na maior parte dos casos não se repete o hemograma, a não ser que o animal não mostre melhoras clínicas. Em determinados animais, em particular nos que são assíduos na clínica Vetarrábida há vários anos, foi possível verificar que o episódio de TIM considerado neste documento apresentava um valor de MPV inferior aos valores médios medidos em análises anteriores.

Acerca dos casos clínicos de TIM discutidos detalhadamente no presente documento salientam-se as seguintes conclusões:

- o plano de diagnóstico não foi perfeito em nenhum caso clínico (no caso de TIM primária realizou-se o diagnóstico terapêutico antes de outros testes que seriam indicados; no caso de TIM secundária a infecção há muitas interferências a considerar; no caso de TIM secundária a neoplasia a abordagem inicial foi incompleta, atrasou-se o diagnóstico e permitiu-se a evolução da neoplasia). Estaria indicado realizar provas de coagulação em todos os casos e não apenas no caso de TIM secundária a infecção, porque os outros animais podem ter alterações secundárias de coagulação (o animal com TIM primária pode ocultar outra anomalia de coagulação que, associada à recidiva de TIM, poderá vir a agravar um episódio de hemorragia; os tumores de mastócitos podem conduzir a CID);
- o diagnóstico final só está bem fundamentado no processo neoplásico (nos casos de TIM primária e de TIM secundária a infecção o diagnóstico não pode considerar-se definitivo porque não se excluíram outras possibilidades. Ainda assim, até à data os animais estão estáveis);
- a TIM tem um prognóstico favorável, desde que haja colaboração dos proprietários para que se implemente os meios complementares de diagnóstico e a terapêutica adequados.

V – BIBLIOGRAFIA

- Abrams-Ogg, A. (2006). Thrombocytopenia. In Mathews KA (Ed.), *Veterinary emergency and critical care manual*. (2nd ed.). Canada: Lifelearn Inc. ISBN 1-896985-47-5. 451-455. 809p.
- Abrams-Ogg, A. & Mathews, K.A. (2006). Acute immune-mediated hemolytic anemia in dogs. In Mathews KA (Ed.), *Veterinary emergency and critical care manual*. (2nd ed.). Canada: Lifelearn Inc. ISBN 1-896985-47-5. 411-417. 809p.
- Amella, M.J.M. (2006). *Atlas de hemocitologia veterinaria*. Spain: Virbac. ISBN 84-934736-3-6. 92-93, 96-101. 171p.
- Aster, J.C. (2005). Red blood cell and bleeding disorders. In V. Kumar, A.K. Abbas & N. Fausto (Eds.), *Robbins and Cotran Pathologic basis of disease*. (7th ed.). China: Elsevier Saunders. ISBN 0-8089-2302-1. 650-652. 1525p.
- Araújo, P. (2008). Uma história de sucesso no controlo da dirofilariose. *Fórum Ciência Merial* (CD) (Portugal, Junho 2008)
- Balch, A & Mackin, A (2007). Canine Immune-mediated hemolytic anemia: pathophysiology, clinical signs and diagnosis; treatment and prognosis, *Compendium Continuing Education for Veterinarian* 29 (4): 217-239
- Baneth, G., Day, M., Roura, X. & Shaw, S. (2005). Leishmaniosis. In S. Shaw & M.J. Day (Eds.), *Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat*. Barcelona: Morrison Publishing. ISBN 1-84076-057-5. 89-99. 152p.
- Bergman, P.J. (2007). Paraneoplastic syndromes. In S.J. Withrow & D.M Vail (Eds.), *Withrow & MacEwen's Small animal clinical oncology*. (4th ed.). Canada: Saunders Elsevier. ISBN-13 978-0-7216-0558-6; ISBN-10 0-7216-0558-3. 85-86, 119-120. 846p.
- Bianco, D., Armstrong, P.J. & Washabau, R.J. (2007). Treatment of severe immune-mediated thrombocytopenia with human IV immunoglobulin in 5 dogs, *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21 (4): 694-699
- Boudreaux, M.K. (1997). Platelet and coagulation disorders. In V.R. Morgan (Ed.), *Handbook of small animal practice*. (3rd ed.). Philadelphia: WB Saunders Co. ISBN: 0-7216-3329-3. 698-704, 706-707. 1436p.
- Brooks, M.B. & Catalfamo, J.L. (2005). Platelet disorders and von Willebrand disease. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman (Eds.), *Textbook of veterinary internal medicine – diseases of the dog and cat*. (6th ed.). Vol II. USA: Elsevier Inc. ISBN 0-7216-0117-0. 1918, 1920-1924. 1992p.
- Brow, T.T., Suter, M.M. & Slauson, D.O. (2002). Immunopathology. In D.O. Slauson & B.J. Cooper (Eds.), *Mechanisms of disease - a textbook of comparative general pathology*. (3rd ed.). USA: Mosby. 273. ISBN 0-3-2268421. 345p.

- Cardoso, L. (2008). Epidemiologia local de leishmaniose. *Fórum Ciência Merial* (CD) (Portugal, Junho 2008)
- Carr, A.P. (2005). Inherited coagulopathies. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman (Eds.), *Textbook of veterinary internal medicine – diseases of the dog and cat*. (6th ed.). Vol II. USA: Elsevier Inc. ISBN 0-7216-0117-0. 1929-1932. 1992p.
- Cohn, L.A. & Langdon, P. (2008). Viral infections. In R.V. Morgan (Ed.), *Handbook of small animal practice*. (5th ed.). USA: Saunders Elsevier. ISBN 978-1-4160-3949-5. 1193-1195. 1379p.
- Couto, C.G. (2003). Hematology and immunology. In C.G. Couto & R.W. Nelson (Eds.), *Small animal internal medicine*. (3rd ed.). China: Mosby. ISBN 0-323-01724-X. 1185-1199, 1210-1221, 1216-1219. 1362p.
- Day, M.J. (Ed.) (1999). *Atlas en color de enfermedades inmunomediadas del perro y el gato: quadros clínicos, diagnóstico y tratamiento*. Espanha: Grass Ediciones Edimsa. ISBN 1-874545-98-7. 51-52, 69-84. 288p.
- DeNicola, D. & Reagan, W.J. (2002). Using cytology in the diagnosis of cancer. In W.B. Morrison (Ed.), *Cancer in dogs and cats - medical and surgical management*. (2nd ed.). China: Teton Newmedia. ISBN 1-893441-47-4. 84-85. 782p.
- Dobson, J.M. & Scase, T.J. (2007). Advances in the diagnosis and management of cutaneous mast cell tumours in dogs. *Journal of Small Animal Practice* 48: 424-431
- Dufort, R.M. & Matros, L. (2005). Acquired coagulopathies. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman (Eds.), *Textbook of veterinary internal medicine – diseases of the dog and cat*. (6th ed.). Vol II. USA: Elsevier Inc. ISBN 0-7216-0117-0. 1936-1937. 1992p.
- Durr, U.M., Kraft, W., Furl, M., Bostedt, H. & Heinritzi, K. (2000). Hematología. In W. Kraft & U.M. Durr (Eds.), *Diagnóstico de laboratorio clínico en veterinaria*. Barcelona: Grass Edicions Edimsa. ISBN 84-7714-190-8. 51-52, 67. 368p.
- Elwood, C. (2001). The cardiovascular system. In I. Ramsey & B.J. Tennant (Eds.), *Manual of canine and feline infectious diseases*. UK: BSAVA. ISBN 0-905214-53-6. 126. 288p.
- Ferasin, L. & Knight, L. (2005). Filarial infections. In S. Shaw & M.J. Day (Eds.), *Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat*. Barcelona: Morrison Publishing. ISBN 1-84076-057-5. 56-60. 152p.
- Figueiredo, T. (2008). Epidemiologia local de Lyme, babesiose, erliquiose. *Fórum Ciência Merial* (CD) (Portugal, Maio 2008)
- Fox, E.L. (1995). Paraneoplastic disorders. In J. Bonagura (Ed.), *Kirk's current veterinary therapy - small animal practice*, XII. USA: WB Saunders Co. ISBN 0-7216-5188-7. 535. 1520p.

- Fox, E.L. (2002). Mast cell tumors. In W.B. Morrison (Ed.), *Cancer in dogs and cats - medical and surgical management*. (2nd ed.). China: Teton NewMedia. ISBN 1-893441-47-4. 451-456. 782p.
- Fry, M.M. & McGavin, M.D. (2007). Bone marrow, blood cells and lymphatic system. In M.D. McGavin & J.F. Zachary (Eds.), *Pathologic basis of veterinary disease*. (4th ed.). China: Mosby Elsevier. ISBN-13: 978-0-323-02870-7. 749-750. 1476p.
- Gentry, P.A. (2007). Hemorrhagic diatheses. In M.G. Maxie (Ed.), *Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of domestic animals*. (5th ed., Vol. 3). China: Saunders Elsevier. ISBN Vol. 3: 13-978 0 7020 2786 (Obra Completa: 13-978 0 7020 2823 6). 311-313, 318-319, 321-323. 737p.
- Giger, U. (2005). Regenerative anemias caused by blood loss or hemolysis. In S.J. Ettinger & E.C Feldman (Eds.), *Textbook of veterinary internal medicine – diseases of the dog and cat*. (6th ed., Vol II). USA: Elsevier Inc. ISBN 0-7216-0117-0. 1901. 1992p.
- Greene, C. (2005). Rickettsiosis. In S. Shaw & M.J. Day (Eds.), *Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat*. Barcelona: Morrison Publishing. ISBN 1-84076-057-5. 134. 152p.
- Greene, C. & DeBey, B.M. (2006). Tularemia. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (3rd ed.). Canadá: Elsevier Inc. ISBN-13 978-1-4160-3949-5. 446. 1387p.
- Greene, C.E., Calpin, J. & Guptill, L. (2008). Bacterial infections. In R.V. Morgan (Ed.), *Handbook of small animal practice*. (5th ed.). USA: Saunders Elsevier. ISBN 978-1-4160-3949-5. 1109. 1379p.
- Greig, B., Breitschwerdt, E.B. & Armstrong, P.J. (2006). Canine granulocytotropic ehrlichiosis. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (3rd ed.). Canadá: Elsevier Inc. ISBN-13 978-1-4160-3949-5. 221-222. 1387p.
- Grindem, C.B. (2000). Trombocitopenias infecciosa y de mediación inmunitaria. In Bonagura (Ed.), *Kirk terapêutica veterinaria de pequenos animais*. (vol I). Espanha: McGraw Hill-Interamericana de España, SAU. ISBN 84-486-0354-0 (Obra completa ISBN 84-486-0353-2). 465-469. 1390p.
- Handin, R.I. (1994). Disorders of the platelet and vessel wall. In Isselbach (Ed.), *Harrison's principles of internal medicine*. (13th ed. Vol 2). USA International edition: McGraw-Hill. ISBN 0-07-11338-8 (Obra completa ISBN 0-07-113380-1). 1799-1800.
- Harnett, B.E. & Kerl, M.E. (2007). Utilização de heparina de baixo peso molecular e de heparina não fraccionada na hipercoagulabilidade de cães e gatos. *Veterinary Medicine*. 9 (52): 61-72
- Harrus, S., Waner, T., Bjoersdorff, A. & Shaw, S. (2005). Ehrlichiosis and anaplasmosis. In S. Shaw & M.J. Day (Eds.), *Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat*. Barcelona: Morrison Publishing. ISBN 1-84076-057-5. 121-122, 124, 129, 132-133. 152p.

- Harvey, J.W. (2006). Thrombocytotropic anaplasmosis. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (3rd ed.). Canadá: Elsevier Inc. ISBN-13 978-1-4160-3949-5. 229-232. 1387p.
- Heseltine, J. (2008). Ultrapassar as dificuldades associadas ao diagnóstico e ao tratamento da trombocitopenia imunomediada nos cães. *Veterinary Medicine* 10 (55): 35-47
- Irizarry-Rovira, A.R. (2008). Paraneoplastic diseases. In R.V. Morgan (Ed.), *Handbook of small animal practice* (5th ed.). USA: Saunders Elsevier. ISBN: 978-1-4160-3949-5. 729. 1379p.
- Irwin, P. (2005). Babesiosis and cytauxzoonosis. In S. Shaw & M.J. Day (Eds.), *Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat*. Barcelona: Morrison Publishing. ISBN 1-84076-057-5. 67. 152p.
- Jarret, O. & Ramsey, I. (2001). Vaccines and reactions to vaccination. In I. Ramsey & B.J. Tennat (Eds.), *Manual of canine and feline infectious diseases*. UK: BSAVA. ISBN 0-905214-53-6. 48. 288p.
- Lappin, M.R. (2003). Infectious diseases. In C.G. Couto & R.W. Nelson (Eds.), *Small animal internal medicine*. (3rd ed.). China: Mosby. ISBN 0-323-01724-X. 1260-1262, 1265-1271, 1273-1275, 1278-1283, 1300-1303. 1362p.
- Lemarie, S.L. (2008). Nodular dermatoses. In R.V. Morgan (Ed.), *Handbook of small animal practice*. (5th ed.). USA: Saunders Elsevier. ISBN 978-1-4160-3949-5. 865. 1379p.
- Lewis, D.C. (2000a). Disorders of platelet number. In M. Day, A. Mackin & J. Littlewood (Eds.), *Manual of canine and feline haematology and transfusion medicine*. Hampshire: BSAVA. ISBN 0-905214-39-0. 189-192. 320p.
- Lewis, D.C. (2000b). Immune-mediated thrombocytopenia. In M. Day, A. Mackin & J. Littlewood (Eds.), *Manual of canine and feline haematology and transfusion medicine*. Hampshire: BSAVA. ISBN 0-905214-39-0. 219-220. 320p.
- Mackin, A. (1998). Bleeding disorders. In N.T. Gorman (Ed.), *Canine medicine and therapeutics*. (4th ed.). Espanha: Blackwell Science. ISBN 0-632-04035-9. 157, 281-297, 309-310. 1086p.
- Meyer, D.J., Coles, E.H. & Rich, L.J. (1992). *Veterinary laboratory medicine - interpretation and diagnosis*. México: W.B. Saunders Company. ISBN 0-7216-2654-8. 43-49, 51-53. 350p.
- Miller, E. (2000). Actualización de TV: diagnóstico y tratamiento de la anemia hemolítica de mediación inmunitaria. In Bonagura (Ed.), *Kirk Terapéutica veterinaria de pequeños animales XIII*. (vol I). Espanha: McGraw Hill-Interamericana de España, SAU. ISBN 84-486-0354-0 (Obra completa ISBN 84-486-0353-2). 454-460. 1390p.

- Miller, E. (2008). Introduction to immune system. In R.V. Morgan (Ed.), *Handbook of small animal practice*. (5th ed.). USA: Saunders Elsevier. ISBN 978-1-4160-3949-5. 739, 747-748. 1379p.
- Mischke, R. (2000). Hemostasis. In W. Kraft W & U.M. Durr (Eds.), *Diagnóstico de laboratorio clínico en veterinaria*. Barcelona: Grass Ediciones Edimsa. ISBN 84-7714-190-8. 92-94, 97-100, 102-107, 109-111. 368p.
- Moritz, A. (2000). In W. Kraft W & U.M. Durr (Eds.), *Diagnóstico de laboratorio clínico en veterinaria*. Barcelona: Grass Ediciones Edimsa. ISBN 84-7714-190-8. 78-86. 368p.
- Morris, J. & Dobson, J. (2002). *Oncología en pequeños animales*. Colômbia: Editorial Intermédica. ISBN 950-555-255-6. 51-54. 265p.
- Morrison, W.B. (1998). Paraneoplastic syndromes and the tumours that cause them. In W.B. Morrison (Ed.), *Cancer in dogs and cats - edical and surgical management*. Baltimore USA: Williams and Wilkins. ISBN 0-683-0105-4. 770-773. 795p.
- Morrison, W.B. (2002). Paraneoplastic syndromes and the tumors that cause them. In W.B. Morrison (Ed.), *Cancer in dogs and cats - Medical and surgical managment*. (2nd ed.). China: Teton Newmedia. ISBN 1-893441-47-4. 738-740. 782p.
- Neer, T.M. & Harrus, S. (2003). Canine monocytotropic ehrlichiosis and neorickettsiosis. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (3rd ed.). Canadá: Elsevier Inc. ISBN-13 978-1-4160-3949-5. 209. 1387p.
- Neves, R., Cardoso, L., Afonso, O. & Campino, L. (2007). Leishmaniose canina em Portugal - o que sabem os proprietários de cães acerca desta zoonose parasitária. *Veterinary Medicine* 9 (52): 48-50
- Ogilvie, G.K. & Moor, A.S. (1995). *Managing the veterinary cancer patient: a practice manual*. New Jersey USA: Veterinary Learning Systems Co. ISBN 1-884254-20-9. 503-510. 542p.
- Parnel, N.K., Guptill, L., Solano-Gallego, L. (2008). Protozoal infections. In R.V. Morgan (Ed.), *Handbook of small animal practice* (5th ed.). USA: Saunders Elsevier. ISBN 978-1-4160-3949-5. 1124-1125, 1135-1136. 1379p.
- Ramsey, I., Gunn-Moore, D. & Shaw, S. (2001). The haemopoietic and lymphoreticular systems. In I. Ramsey & B.J. Tennat (Ed.), *Manual of canine and feline infectious diseases*. UK: BSAVA. ISBN 0-905214-53-6. 66-67, 75-76, 86-87. 288p.
- Russel, K.E. & Grindem, C.B. (2000). Secondary thrombocytopenia. In B. J. Feldman, J.G. Zinkl & N.C. Jain (Eds.), *Schalm's veterinary haematology*. (5th ed.). Canadá: Lippincot Williams and Wilkins. ISBN 0-683-30692-8. 487-492. 1344p.
- Santos, F.D. & Miranda, P. (2006). *Alterações climáticas em Portugal, cenários, impactos e medidas de adaptação. (Projecto SIAM II)*. Lisboa: Gradiva Publicações Lda. Depósito Legal 237231/06. 454-461. 506p.

- Scott, M.A. (2000). Immune-mediated thrombocytopenia. . In B. J. Feldman, J.G. Zinkl & N.C. Jain (Eds.), *Schalm's veterinary haematology*. (5th ed.). Canadá: Lippincot Williams and Wilkins. ISBN 0-683-30692-8. 478-484. 1344p.
- Scott, M.A. & Matthew, W.B. (2008). Disorders of coagulation and fibrinolysis. In R. V. Morgan (Ed.), *Handbook of small animal practice* (5th ed.). USA: Saunders Elsevier. ISBN 978-1-4160-3949-5. 676-677, 684, 686. 1379p.
- Shaw, S. (2005). Other arthropod-borne infections of dogs and cats. In S. Shaw & M. J. Day (Eds.), *Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat*. Barcelona: Morrison Publishing. ISBN 1-84076-057-5. 139-140. 152p.
- Simões, P.B. (2008). Workshop de citologia (CD). *Fórum ciência Meril* (Portugal, Junho 2008)
- Slauson, D.O. (2002). Disturbances of blood flow and circulation. In D. O. Slauson & B. J. Cooper (Eds.), *Mechanisms of disease - a textbook of comparative general pathology*. (3rd ed.). USA: Mosby. 89-11. ISBN 0-3-2268421. 345p.
- Smith, R.D., Ristic, M., Huxsoll, DL, Baylor RA. (1975). Platelet kinetics in canine ehrliquiosis: evidence for rise in platelet destruction as the cause of thrombocytopenia. *Infectious Immunology* 11 (6): 1216-1221. Acedido em Abril, 2008, disponível em www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi
- Solano-Gallego, L. (2008a). Rickettsial infections. In R. V. Morgan (Ed.), *Handbook of small animal practice*. (5th ed.). USA: Saunders Elsevier. ISBN 978-1-4160-3949-5. 1121-1124. 1378p.
- Solano-Gallego, L. (2008b). Leishmaniosis. In R. V. Morgan (Ed.), *Handbook of small animal practice*. (5th ed.). USA: Saunders Elsevier. ISBN 978-1-4160-3949-5. 1140-1141. 1378p.
- Sousa, R. & Bacelar, F. (2004). Morbi-mortalidade por *Rickettsia conorii* em Portugal. *XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária - I Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses de Ouro Preto*. Acedido em Maio de 2008, disponível em www.rbpu.ufrjf.br
- Straubinger R (2008). Doenças vectoriais transmitidas por carraças (CD). *Fórum Ciência Meril* (Portugal, Maio 2008)
- Tennant, B. (2001). The liver, pancreas and spleen. In I. Ramsey & B. J. Tennant (Eds.) *Manual of canine and feline infectious diseases*. UK: BSAVA. ISBN 0-905214-53-6. 77-79. 288p.
- Thamm, D.H. & Vail, D.M. (2007). Mast cell tumors. In S. J. Withrow & D. M. Vail (Eds.), *Withrow & MacEwen's small animal clinical oncology*. (4th ed.). Canadá: Saunders Elsevier. ISBN-13 978-0-7216-0558-6; ISBN-10: 0-7216-0558-3. 402-416. 846p.
- Thomas, T.J. (2008). Platelet disorders and von Willebrand disease. In R. V. Morgan (Ed.), *Handbook of small animal practice*. (5th ed.). USA: Saunders Elsevier. ISBN 978-1-4160-3949-5. 669-674. 1379p.
- Valenti, P.F. & Rozman, C. (1972). *Medicina Interna*. (8th ed. Tomo II). Editorial Marin. 475.

- Vandis, M. & Knoll, J.S. (2007). Exame citológico de um mastocitoma cutâneo num boxer. *Veterinary Medicine* 9 (52): 21-23
- Ware, W.A. (2003). Cardiovascular system disorders. In C. G. Couto CG e R. W. Nelson (Eds.), *Small animal internal medicine*. (3rd ed.). China: Mosby. ISBN 0-323-01724-X. 135-137. 1362p.
- Weinberger, M., Keysary, A., Sandbank, J., Zaidenstein, R., Itzaki, A., Strenger, C. (2008). Fatal *Rickettsia conorii* subesp. *israelensis* infection, Israel (Israeli spotted fever). *Emerging infectious diseases* 14 (5): 821-823
- Witley, N. (2007). Assessment of immune-mediated disease in dogs and cats. *In practice* 29 (6): 320-327
- Zimmerman, K.L. (2000). Drug induced thrombocytopenias. In B. F. Feldman, J. G. Zinkl & N. C. Jain (Eds.), *Schalm's veterinary haematology*. (5th ed.). Canadá: Lippincot Williams and Wilkins. ISBN 0-683-30692-8. 473-476. 1344p.